



UNIVERSIDAD NACIONAL DEL COMAHUE
CENTRO REGIONAL UNIVERSITARIO BARILOCHE

CARACTERIZACIÓN DE LA MATERIA ORGÁNICA ALÓCTONA Y LA DINÁMICA DE SU INGRESO EN UN LAGO PROFUNDO NORPATAGÓNICO A TRAVÉS DE ARROYOS TRIBUTARIOS



Trabajo de Tesis para optar al Título de Doctor en Biología

Lic. Roberto Daniel García

Directora: Dra. María del Carmen Diéguez

Co-Directora: Dra. Mariana Reissig

2016



RESUMEN

Las aguas continentales actúan como nexo en los ciclos biogeoquímicos conectando los sistemas terrestres, la atmósfera y los océanos. Las fluctuaciones en las características químicas de estos ambientes revelan información sobre procesos de la biosfera. La materia orgánica disuelta (MOD) transportada por las redes fluviales tiene un rol importante en el flujo de carbono entre diferentes compartimentos de la biosfera. La MOD influye en la ecología de las aguas superficiales ya que atenúa la radiación solar, regula el pH, interviene en el transporte de nutrientes y metales, y sustenta las tramas tróficas microbianas. La transferencia de MOD entre sistemas, su concentración y calidad, están controladas por factores climáticos, físico-químicos y biológicos.

Los ecosistemas acuáticos andino-patagónicos se encuentran modelados por las bajas temperaturas, la elevada exposición a la radiación solar y por niveles extremadamente bajos de nutrientes y MOD. Los arroyos de montaña drenan suelos rocosos y áreas cubiertas por bosques de *Nothofagus*, desembocando en lagos profundos pedemontados. El clima de la región es templado-frío con precipitaciones concentradas en el período de otoño-invierno. Las proyecciones de cambio climático para la región incluyen variaciones en las precipitaciones y el aumento de la temperatura, variables que afectan la contribución de materiales terrestres a los sistemas acuáticos.

En esta investigación se analizó la dinámica del subsidio de materiales terrestres en cuatro arroyos de montaña (Casa de Piedra, De la Virgen, Goye y López), que drenan la cuenca del complejo lacustre Moreno (lagos Moreno Este y Oeste; Parque Nacional Nahuel Huapi, Argentina). Para ello se monitoreó: a- los cuatro arroyos durante 28 meses en sitios cercanos a la desembocadura, b- un gradiente altitudinal en el A° Casa de Piedra, y c- las plumas de tres de los cuatro arroyos sobre los lagos. En cada sitio y ocasión, se determinaron parámetros físico-químicos y morfométricos, concentraciones de sólidos totales en suspensión (STS), nutrientes (fosforo y nitrógeno, PT y NT) y carbono orgánico disuelto (COD), y se analizaron las propiedades de la MOD mediante espectroscopía de absorción (MOD cromofórica, MODC) y de fluorescencia (MOD fluorescente, MODF). Debido a la erupción del volcán Puyehue–Cordón Caulle (PCC) ocurrido durante el estudio (junio de 2011), se analizó su efecto en los arroyos. Por último, se realizaron experimentos de laboratorio para estudiar el efecto de la foto y biodegradación sobre la transformación de la MOD proveniente de lixiviados de suelo y de hojas de lenga (*N. pumilio*).

Los resultados revelaron que estos arroyos se encuentran entre los ambientes dulceacuícolas más oligotróficos del mundo, con muy bajas concentraciones de COD y nutrientes (COD 0.5-1 mg/L, PT<10 µg/L; NT<200 µg/L). Las precipitaciones rigieron el transporte de materiales particulados y disueltos desde la cuenca, incrementando varias veces sus concentraciones basales durante eventos extremos de escorrenría. Los análisis espectroscópicos de la MODC y MODF en conjunto señalaron que la MOD de los arroyos es de origen alóctono, de tamaño molecular grande, elevada aromaticidad y alto grado de humificación, con señales de procesamiento microbiano. En el gradiente altitudinal del A° Casa de Piedra, se observó la variación en el aporte de MOD y nutrientes desde la cuenca, detectándose el incremento de la aromaticidad, del tamaño molecular, del contenido de lignina y el grado de humificación de la MOD desde la naciente hasta la desembocadura. El ingreso de los arroyos en los lagos, refleja la influencia de la cuenca, observándose características transicionales en las plumas. El estudio de las matrices de fluorescencia de la MOD mediante análisis de factores paralelos (PARAFAC) detectó tres componentes de origen terrestre: C1, C2 (compuestos tipos húmicos terrestres, con procesamiento microbiano) y C3 (compuestos tipo proteico/fenólicos y derivados de pigmentos). El C1 fue el compuesto dominante durante todo el año, mientras que el C3 cobró mayor importancia durante la

primavera, producto de la descomposición de la hojarasca. Los efectos del volcán no pudieron distinguirse del efecto de las lluvias que afectaron la región al momento de la erupción. Debido a las pendientes pronunciadas y a la velocidad del agua de los arroyos, el material depositado por el volcán se exportó rápidamente hacia los lagos. El aporte excepcional de C3 post-erupción se relacionaría con cambios en el procesamiento de la materia orgánica en los suelos. Los ensayos de laboratorio revelaron el elevado aporte de MOD de las hojas de *N. pumilio* en comparación con el aporte del suelo. Los productos lixiviados de hojas presentaron mayor biodegradabilidad en comparación con los del suelo que resultaron recalcitrantes. La fotodegradación afectó tanto a los lixiviados de hojas y suelos como al agua del arroyo, reduciendo sustancialmente los componentes húmicos más recalcitrantes de la MOD. En conjunto, los ensayos permitieron determinar el efecto de la microbiota sobre la calidad de la MOD, a través de su consumo selectivo sobre los componentes proteico/fenólicos y la producción de metabolitos húmicos.

Los estudios realizados indican una fuerte aloctonía en los arroyos. La vegetación y los suelos de la cuenca son las fuentes principales de materia orgánica, mientras que la producción autóctona resulta extremadamente baja en estos sistemas. Las precipitaciones otoñales colectan materiales entregando a los arroyos pulsos de partículas, nutrientes y MOD húmica. El deshielo de primavera colecta una mezcla de sustancias húmicas y proteico/fenólicas provenientes de la hojarasca y de la actividad microbiana de los suelos. Este estudio proporciona las primeras evidencias acerca del funcionamiento de los sistemas lóticos prístinos de cabecera en términos de la dinámica de la MOD y de los nutrientes, poniendo en evidencia la interacción y dependencia de estos sistemas y la cuenca en las cabeceras de las redes fluviales andino-patagónicas.

SUMMARY

“Characterization of the contribution of allochthonous dissolved organic matter to North Patagonian deep lakes through tributary streams”

Inland waters link the terrestrial ecosystem and the oceans to the atmosphere through their connecting role in biogeochemical cycling. The fluctuations in chemical properties of freshwater ecosystems reveal processes occurring in different compartments of the biosphere. Dissolved organic matter (DOM) transported by fluvial networks has an important role in the carbon flux in the biosphere. DOM influences several ecological properties of aquatic ecosystems, controlling the underwater light climate, regulating the pH, mediating the transport of nutrients, metals and, ultimately supporting microbial food webs. The transference of DOM among ecosystems, its magnitude and quality are controlled by several factors including climate, physic-chemical and biological ones.

Andean-patagonian freshwaters are shaped by low temperature, high exposure to solar radiation and extremely low nutrient and DOM levels. Mountain streams drain rocky substrates and areas with native *Nothofagus* forest into deep piedmont lakes. The regional climate is cold-temperate with precipitation concentrated during fall and winter. The projections of climate change in North Patagonia forecast changes in the precipitation pattern, warming, both processes known to affect the contribution of terrestrial materials to aquatic ecosystems.

This investigation analyzed the dynamics of the terrestrial subsidy and its transport in four mountain streams (Casa de Piedra, De la Virgen, Goye and López), draining Moreno lake complex watershed (lakes Moreno East and West, Nahuel Huapi National Park, Argentina). For this purpose field surveys were performed, including: a- a 28 months survey of the four mountain streams, b- an altitudinal survey during summer and early fall along Casa de Piedra stream, and c- a plume survey in the inlet of three out of the four streams into the lakes. In each site and location, physic-chemical and morphometric parameters were recorded, along with laboratory determinations of total suspended solids (TSS), nutrients (phosphorus and nitrogen, TP and TN) and dissolved organic carbon concentrations (DOC) and characterization through absorbance (chromophoric DOM, CDOM) and fluorescence (fluorescent DOM, FDOM) spectroscopy analyses. The influence the eruption of the Puyehue-Cordón Caulle volcanic complex (June 2011), occurring during the study period, was analyzed. Additionally, laboratory experiments were performed to assess the biodegradation and photodegradation processes on DOM from soil and plant biomass (*N. pumilio* leaves) leachates.

The results showed that the andean-patagonian streams studied are among the most oligotrophic freshwaters of the world, characterized by very low DOC and nutrient concentrations (COD 0.5-1 mg/L, PT<10 µg/L; NT<200 µg/L). Precipitation was found to drive the transport of particulate and dissolved materials from the catchment, increasing several fold their concentrations during extreme runoff events.

Absorbance and fluorescence spectroscopy of the CDOM and FDOM fractions pointed out its allochthonous origin, large molecular size and aromaticity along with a high degree of humification and signals of microbial processing. The altitudinal gradient analyzed along the trajectory of Casa de Piedra stream, showed the variations in the terrestrial subsidy of DOM and nutrients, detecting changes in DOM quality as reflected by the increase in aromaticity, molecular size, lignin content and humification from the headwater to the outlet in the lake. The inlet of the streams into deep lakes reflect the influence of the catchment, presenting transitional patterns in the plumes. The study of the EEMs through parallel factor

analysis (PARAFAC) detected three components of terrestrial origin: C1, C2 (humic compounds of terrestrial origin, with certain degree of microbial processing) and C3 (proteinaceous/phenolic and pigment-derived compounds). The C1 prevailed year round while the C3 increased during spring, probably due to degradation of leaf litter. The effects of the PCC event could not be distinguished from the precipitation effect, affecting the area during and right after the eruption. Due to the sharp steep and the high velocity of the water, the streams exported the materials rapidly to the piedmont lakes. The exceptional contribution of the C3 observed after the volcanic eruption, could be related to changes in the degradation of DOM in the soil. The laboratory assays showed the high DOM contribution of the *N. pumilio* leaves leachate, in contrast with the lower contribution of the soil. The DOM leached by leaves showed higher biodegradability compared to that from soil, which was recalcitrant. Photodegradation affected both leachates and also the stream water, decreasing substantially the humic, highly-recalcitrant components of the DOM. Overall, the laboratory trials allowed determining the role of the microbiota in changing DOM quality, through the selective consumption of the proteinaceous/phenolic components and the production of humic metabolites.

The study shows strong allochthony in the streams. The catchment vegetation and soils are the main sources of organic matter to the streams, while the autochthonous production has an extremely low contribution. Fall precipitation collects materials delivering pulses of particles, nutrients and humic DOM. Spring snowmelt delivers a mixture of humic and proteinaceous/phenolic compounds originated from leaf litter leachates and the microbial activity in the soil. This investigation provides the first evidence about DOM and nutrients dynamics in pristine lotic systems, highlighting their interaction and dependence of the catchment in the headwaters of the andean-patagonian fluvial networks.

ÍNDICE DE CONTENIDOS

RESUMEN	1
SUMMARY	3
ÍNDICE DE CONTENIDOS	5
GLOSARIO DE TÉRMINOS	8
INTRODUCCIÓN GENERAL	9
i.1 INTRODUCCIÓN GENERAL	10
i.1.1 Propiedades químicas de la MOD	14
i.1.2 Origen, transporte y transformación de la MOD	16
i.1.3 Dinámica de la MOD en las redes fluviales	18
i.1.4 Propiedades ópticas de la MOD	20
i.1.5 La influencia del cambio climático sobre la MOD	22
i.1.6 Arroyos y lagos como centinelas del cambio climático	25
i.1.7 Fundamentación del estudio	27
i.2 OBJETIVOS	29
i.2.1 Objetivos específicos	29
MATERIALES Y MÉTODOS GENERALES	31
M.1 INTRODUCCIÓN	32
M.2 ÁREA DE ESTUDIO GENERAL	35
M.3 SITIOS DE MUESTREO	39
M.4 MATERIALES Y MÉTODOS GENERALES	40
M.4.1 Colecta de muestras y mediciones de campo	40
M.4.2 Análisis de laboratorio	41
M.4.2.1 Determinación de nutrientes	41
M.4.2.2 Determinación de clorofila a en el epilíton	41
M.4.2.3 Sólidos totales en suspensión	42
M.4.3 Caracterización de la materia orgánica disuelta (MOD)	43
M.4.3.1 Concentración de carbono orgánico disuelto (COD) y carbono inorgánico disuelto (CID)	43
M.4.3.2 Caracterización de la MOD cromofórica (MODC)	43
M.4.3.3 Caracterización de la MOD fluorescente (MODF) y fundamentos metodológicos	47

M.4.3.4 Modelado con PARAFAC	54
M.4.4 Estimación de la concentración de MOD no cromofórica y no fluorescente	56
M.4.5 Análisis de datos	57
Capítulo I: TRANSPORTE DE MATERIALES EN LOS ARROYOS QUE DRENAN LA CUENCA DEL COMPLEJO LACUSTRE MORENO	58
I.1 INTRODUCCIÓN	59
I.2 OBJETIVO	62
I.2.1 Hipótesis y predicciones	62
I.3 MATERIALES Y MÉTODOS	63
I.3.1 Sitios de muestreo	63
I.3.2 Análisis de datos	66
I.4 RESULTADOS	66
I.4.1 Características de la cuenca y parámetros físico-químicos de sus arroyos	66
I.4.2 Caracterización de la MOD mediante análisis de absorbancia y fluorescencia	76
I.4.3 PARAFAC	80
I.4.4 Análisis de Componentes Principales (PCA)	88
I.5 DISCUSIÓN	90
Capítulo II: DINÁMICA DE LA MOD Y LOS NUTRIENTES EN UN GRANDENTE LONGITUDINAL SOBRE EL A° CASA DE PIEDRA Y EL INGRESO A LOS LAGOS	99
II.1 INTRODUCCIÓN	100
II.2 OBJETIVO	102
II.2.1 Hipótesis y predicciones	102
II.3 MATERIALES Y MÉTODOS	102
II.3.1 Sitios de muestreo	102
II.3.2 Análisis de datos	106
II.4 RESULTADOS	107
II.4.1 Dinámica espacial de los parámetros físico-químicos en el arroyo Casa de Piedra	107
II.4.2 PARAFAC	114
II.4.3 Ingreso de los arroyos en el complejo lacustre Moreno	118
II.5 DISCUSIÓN	124
Capítulo III: PROCESOS DEGRADATIVOS SOBRE LA MATERIA ORGÁNICA DISUELTA	132
III.1 INTRODUCCIÓN	133

III.2 OBJETIVO GENERAL	135
III.2.1 Objetivos particulares	135
III.3 MATERIALES Y MÉTODOS	136
III.3.1 Colecta de material para los experimentos	136
III.3.2 Extracción de MOD proveniente de suelo y hojas por lixiviación	136
III.3.3 Experimentos de laboratorio	138
III.3.3.1 Experimentos de biodegradación de la MOD sobre productos de lixiviación	138
III.3.3.2 Experimentos de fotodegradación de la MOD	141
III.3.4 Análisis estadístico de los resultados experimentales	143
III.3.4.1 Modelado con PARAFAC	144
III.4 RESULTADOS	144
III.4.1 Experimentos de biodegradación	144
III.4.2 Experimentos de fotodegradación	156
III.4.3 PARAFAC	163
III.5 DISCUSIÓN	170
CONCLUSIONES FINALES	176
AGRADECIMIENTOS	183
BIBLIOGRAFÍA	185
TRABAJO DE RESPALDO	215

GLOSARIO DE TÉRMINOS

a_{254}	Coefficiente de absorción a 254 nm
a_{350}	Coefficiente de absorción a 350 nm
a_{440}	Coefficiente de absorción a 440 nm
ACP	Análisis de Componentes Principales
BIX	Índice de MOD microbótica (algas y/o microbiana) recientemente producida
COD	Carbono Orgánico Disuelto
CID	Carbono Inorgánico Disuelto
FI	Índice de Fluorescencia
HIX	Índice de Humificación
Pico A	MODF a Ex/Em 250 nm/435 nm
Pico C	MODF a Ex/Em 340 nm/440 nm
Pico M	MODF a Ex/Em 320 nm/410 nm
Pico T	MODF a Ex/Em 280 nm/350 nm
EEM	Matriz de Excitación-Emisión
MO	Materia Orgánica
MOD	Materia Orgánica Disuelta
MODC	Materia Orgánica Disuelta Coloreada
MODF	Materia Orgánica Disuelta Fluorescente
MODnC	Materia Orgánica Disuelta no Coloreada
MODnF	Materia Orgánica Disuelta no Fluorescente
RFA	Radiación Fotosintéticamente Activa
PARAFAC	" <i>Parallel Factor Analysis</i> " = Análisis de Factores Paralelos
RU	" <i>Raman Units</i> " = Unidades Raman
RUV	Radiación Ultravioleta
S	Pendiente espectral
$SUVA_{254}$	Coefficiente de absorción específica de la MODC a 254 nm
$S_{275-295}$	Pendiente espectral del intervalo de 275-295 nm
$S_{350-400}$	Pendiente espectral del intervalo de 300-400 nm
S_R	Cociente entre las pendientes espectrales $S_{275-295}$ y $S_{350-400}$
UV	Ultravioleta
UVA	Radiación entre los 315-400 nm, onda larga
UVB	Radiación entre los 280-315 nm, onda media
UVC	Radiación entre los 100-280 nm, onda corta

INTRODUCCIÓN GENERAL



i.1 INTRODUCCIÓN GENERAL

Las cuencas de los ambientes acuáticos vinculan la atmósfera, la vegetación, los suelos y los cursos de agua a través del flujo de los materiales y de la energía (Lohse et al., 2009). La comprensión de la importancia global de la conectividad y de la dinámica conjunta de sistemas se debe en gran medida a las consecuencias del cambio climático global sobre el ciclado de los materiales y de la energía (Wetzel, 2001; Erickson et al., 2015). El agua tiene un rol central en la interacción entre ecosistemas, siendo el principal vehículo de transferencia de materiales entre ambientes acuáticos y terrestres. En particular, los ambientes acuáticos son sistemas concentradores y, por lo tanto, reflejan procesos intrínsecos de la cuenca, que se reflejan en señales o huellas integradas de los procesos bióticos y abióticos que experimentaron (Adrian et al., 2009; Williamson et al., 2009). Los elementos como el carbono (C), el nitrógeno (N) y el fósforo (P) poseen ciclos de tipo biogeoquímicos, es decir, en el que interactúan agentes físicos, químicos y biológicos (Wetzel, 2001). En particular, el ciclo del C revela esta dinámica ecosistémica conjunta y a su vez interactúa con los ciclos biogeoquímicos de otros elementos vitales para el funcionamiento de la biosfera (Lohse et al., 2009). Algunos procesos fisiológicos fundamentales como la fotosíntesis y la respiración tienen un efecto importante sobre el ciclo del carbono. La fotosíntesis utiliza compuestos inorgánicos simples (dióxido de carbono, nitrógeno, fósforo, entre otros) que se convierten a material orgánico, resultando el oxígeno un subproducto de la reacción, mientras que la respiración es el proceso inverso. El balance entre estos dos procesos regula el metabolismo de los ecosistemas. Actualmente, el ciclo global del carbono se encuentra afectado por el desbalance en la producción de dióxido de carbono (CO₂) en sistemas terrestres y acuáticos, reflejado en una acumulación atmosférica de CO₂, uno de los gases del efecto invernadero, que afecta la productividad de la biosfera y su capacidad para procesar elementos (Williamson et al., 2008; Grimm et al., 2013).

A nivel ecosistémico, la cantidad de carbono orgánico producida a través de la fotosíntesis es denominada producción primaria bruta (PPB). La diferencia entre la PPB y la respiración (R) combinada de las propias plantas y organismos heterotróficos se denomina producción neta ecosistémica ($PNE = PPB - R$) (Chapin et al., 2006). El equilibrio de la PNE es utilizado para definir la clasificación trófica de los sistemas. Los ecosistemas que acumulan carbono (la PPB excede a la R; $PNE > 1$) se denominan ecosistemas autótrofos, mientras que los que pierden carbono (la R excede la PPB; $PNE < 1$) son llamados ecosistemas heterótrofos (Chapin et al., 2006). En el gradiente trófico ecosistémico, los sistemas acuáticos más

autotróficos son los océanos abiertos, cuya producción primaria está estimada en $\sim 50 \text{ Pg C año}^{-1}$, sustentando con creces la respiración de estos ecosistemas (Azam y Cho, 1987). A diferencia de los océanos, los ambientes acuáticos continentales presentan diferente grado de heterotrofia ya que reciben materiales del medio terrestre y de la atmósfera que sustentan en diferente grado su metabolismo interno y sus tramas tróficas (Polis et al., 1997; Pace et al., 2004; Cole et al., 2007). Los materiales provenientes fundamentalmente del ambiente terrestre (aporte externo o alóctono) son transportados por la acción de diversos agentes (Van Gaelen et al., 2014), como por ejemplo las precipitaciones (Wilson et al., 2013) y el transporte atmosférico (Mladenov et al., 2012). El material importado puede ser orgánico e inorgánico y su ingreso tiene diferentes implicancias en la dinámica de los cuerpos de agua receptores (Cole et al., 2007; Del Giorgio y Pace, 2008). El subsidio de carbono orgánico puede alterar el equilibrio metabólico de las aguas dulces (Caraco y Cole, 2004; Hanson et al., 2004). Actualmente, los sistemas acuáticos continentales son considerados sitios de almacenamiento y vehículos de materiales provenientes de la producción terrestre, los cuales se transforman profundamente en la ruta hacia los océanos (Del Giorgio y Pace, 2008; Aufdenkampe et al., 2011), regulando la cantidad y calidad de los materiales que reciben (Tanentzap et al., 2014; Creed et al., 2015). La interfase entre los ambientes terrestres y acuáticos es una zona de actividad biogeoquímica intensa (McClain et al., 2003), expandiéndose y contrayéndose con las fluctuaciones del agua (Kalbitz et al., 2005). Esta interface es especialmente importante en ríos, arroyos, lagunas temporarias y pequeños lagos debido a la elevada relación perímetro-área, que determina un contacto alto con el medio terrestre. El subsidio de materiales y energía desde la cuenca al medio acuático está regulado principalmente por factores climáticos, particularmente por las precipitaciones (Xu et al., 2012; Wilson et al., 2013). Las precipitaciones torrenciales y tormentas pluviales modifican fuertemente los patrones del flujo dentro de las cuencas e intensifican la exportación de materiales terrestres a los diferentes cuerpos de agua (Sanderman et al., 2009; van Verseveld et al., 2009). Se han registrado cambios notables en la concentración y composición química en ríos, p.e. de la materia orgánica disuelta (Hood et al., 2006; Yang et al., 2013). A lo largo de su ciclo dentro de las cuencas, el agua de las precipitaciones atraviesa la vegetación, lavando materiales en su superficie (“*throughfall*”, en inglés), discurriendo por diferentes sustratos y horizontes del suelo y lechos (p.e. las rocas de los acuíferos, compuestos orgánicos de los sedimentos, etc.) y contactando con diversos organismos (p.e. animales, plantas, bacterias, etc.) (**Fig. i.1**) (Xu y Saiers, 2010; Mann et al., 2014; Bischoff et al., 2015). De esta manera, el agua de las precipitaciones concentra una gran variedad de materiales que finalmente se transportan a los

cuerpos de agua, determinando aspectos de su química y funcionamiento (Aufdenkampe et al., 2011). Debido a esto, las propiedades de la cuenca de drenaje, incluyendo el tipo de suelo, la cobertura vegetal, la pendiente, la extensión de la ribera, la conexión con el freático, etc., son determinantes de la cantidad y calidad de los materiales que se exportan, como así también determinan propiedades importantes del sistema (Lohse et al., 2009; Yamashita et al., 2011; Dick et al., 2014).

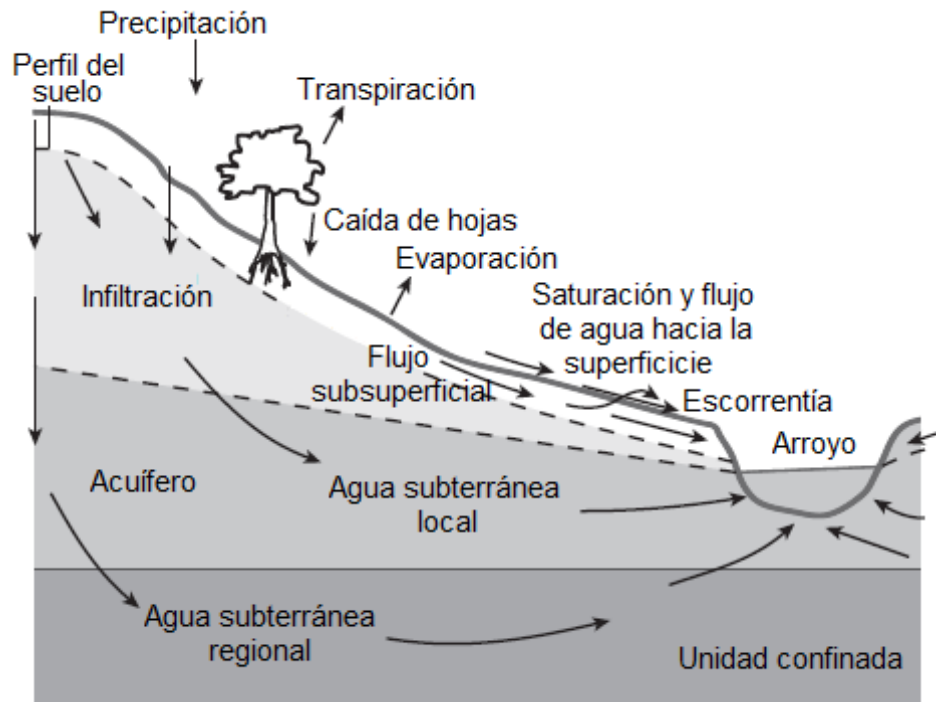


Figura i.1. Esquema del ciclo del agua y del transporte de materiales hacia la red fluvial en una cuenca (Modificado de Lohse et al., 2009).

El oxígeno disuelto (O_2), cuya concentración influye en la solubilidad de otras sustancias, como por ejemplo hierro, manganeso o fósforo, determina las características de la biota acuática (Lampert y Sommer, 2007). El CO_2 disuelto en forma ácido carbónico (H_2CO_3), que al perder protones forma iones de bicarbonato (HCO_3^-) y carbonato (CO_3^{2-}), controla la capacidad de amortiguar el pH ante la llegada de protones al medio (Wetzel, 2001). Las aguas fluviales acarrean metales como el calcio, magnesio, aluminio, hierro, sodio y potasio, los que muchas veces aparecen ligados a compuestos orgánicos y no como cationes aislados. Entre los elementos no metálicos, el fósforo y el nitrógeno poseen gran importancia biológica por ser elementos esenciales para la biota considerados como macronutrientes (Wetzel, 2001; Lampert y Sommer, 2007). El agua natural presenta además un conjunto heterogéneo de sustancias orgánicas: moléculas muy diversas en cuanto a peso molecular y biodisponibilidad,

que incluye desde compuestos simples (aminoácidos o azúcares sencillos) a polímeros complejos (sustancias húmicas particuladas) (Aiken, 2014; y referencias en este trabajo) y forman lo que se denomina materia orgánica (MO).

La MO se categoriza y cuantifica usualmente como materia orgánica particulada (MOP) y materia orgánica disuelta (MOD). La separación entre estos dos tipos de material no es absoluta debido a que existe un continuo en el tamaño de las partículas y en el peso molecular (Wetzel, 2001). Sin embargo, por convención y en la práctica de laboratorio la separación de la MOP y de la MOD se realiza por filtración, considerándose disuelto al material orgánico que posee un tamaño menor a 0.7 μm (Wetzel y Likens, 1991; Wetzel, 2001). La separación de la MO en estas dos fracciones de tamaño tiene relevancia a nivel trófico puesto que la mayoría de los consumidores secundarios (desde los protozoos hasta los peces) se alimentan de MOP, mientras que los microorganismos descomponedores como las bacterias hacen uso de la MOD (Lampert y Sommer, 2007). La MOD proviene de diferentes procesos, como por ejemplo la lixiviación de los suelos y los productos de la biota terrestre, la excreción y lisis de los organismos, siendo producto de reacciones complejas a partir de precursores más sencillos (Wetzel, 2001; Kellerman et al., 2014).

La MOD es la porción mayoritaria de C orgánico en las aguas continentales (Karlsson et al., 2005; Cole et al., 2006), en los océanos (Hansell et al., 2009) y en los suelos (Kögel-Knabner et al., 2008; Aufdenkampe et al., 2011). Es por ello que la concentración de carbono orgánico disuelto (COD) se utiliza generalmente como un parámetro cuantitativo o indicador de la concentración de la MOD (p.e. Jaffé et al., 2008). En los ríos, la MOD normalmente representa el ~60% de la carga de carbono orgánico total, mientras que en los océanos representa más del 95% del carbono detrítico en la columna de agua (Hansell et al., 2009; Stets y Striegl, 2012). Debido a su alta movilidad y reactividad la MOD tiene un rol central en el ciclo global del C y en gran medida, de ella depende la circulación rápida de la energía y los nutrientes dentro y entre ecosistemas (**Fig. i.2**) (Kaiser y Kalbitz, 2012; Chen y Jaffé, 2014). A diferencia del material particulado, la MOD no puede ser utilizada directamente por los consumidores primarios sino que ingresa en el bucle microbiano o “*microbial loop*” de la trama trófica pelágica (Azam et al., 1983; Tranvik, 1992; Kritzberg et al., 2005) o en la trama microbiana presente en sistemas lóticos (Burrows et al., 2013) donde se procesa una gran parte del flujo de carbono y energía en los sistemas acuáticos (Cole et al., 2007). Las bacterias metabolizan la MOD convirtiéndola en biomasa, transfiriendo su energía hacia niveles superiores de las tramas tróficas acuáticas y eliminando CO_2 a la atmósfera (Wetzel, 2001) (**Fig. i.2**). La MOD es un insumo fundamental para las tramas alimentarias, especialmente en

los sistemas lóticos de cabecera (Wetzel, 2001). Si bien la producción primaria acuática puede ser importante, gran parte de la energía que sostiene a las tramas tróficas fluviales deriva del subsidio de MOD de la cuenca (Aufdemkampe et al., 2011; Stets y Striegl, 2012; Tanentzap et al., 2014).

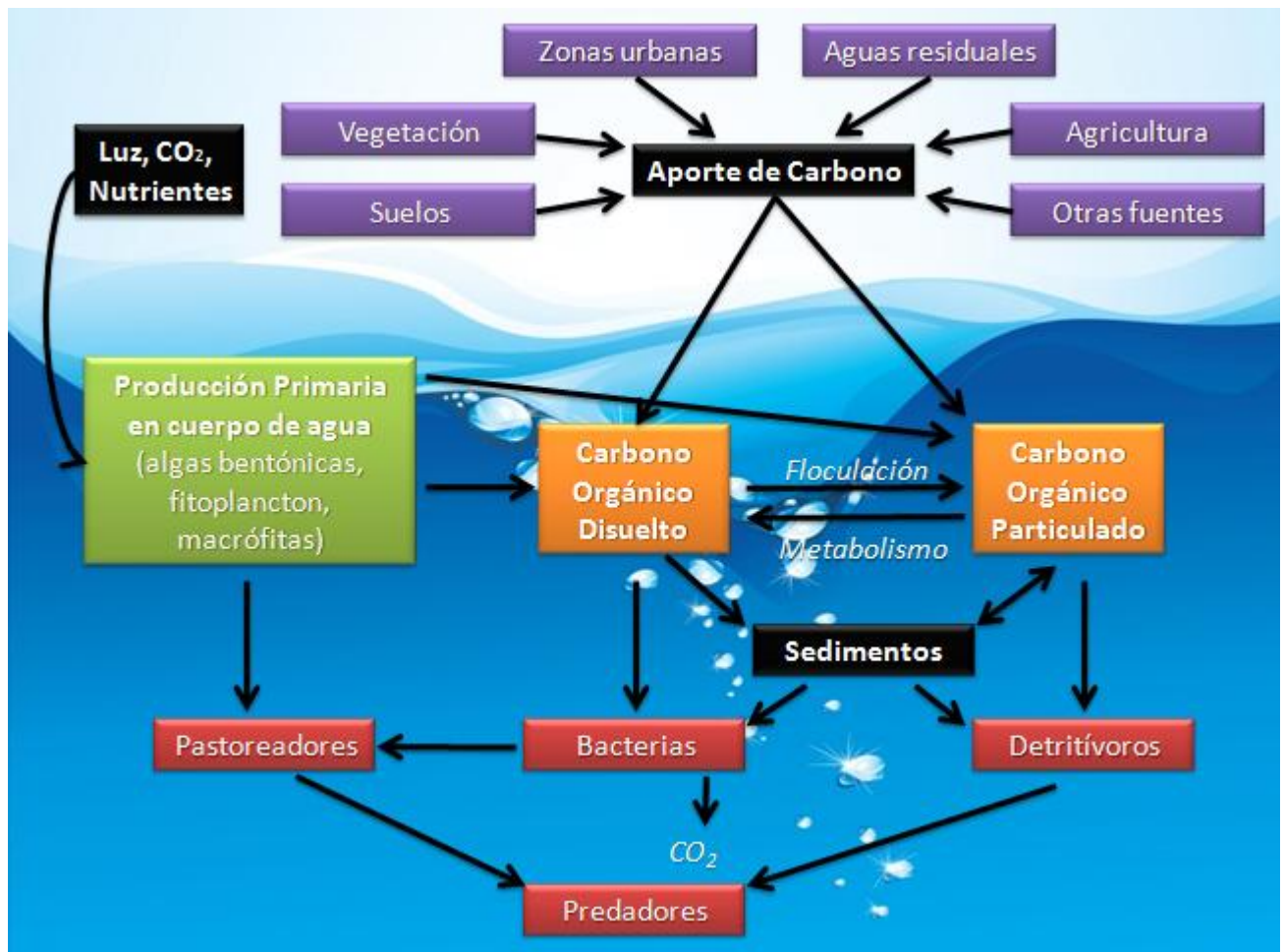


Figura i.2. Esquema del ciclo del carbono orgánico en el medio acuático (modificado de Wetzel, 2001).

i.1.1 Propiedades químicas de la MOD

La MOD está compuesta primariamente por carbono, nitrógeno, fósforo, oxígeno, hidrógeno y azufre, e incluye un amplio espectro de sustancias simples como aminoácidos o azúcares sencillos, polímeros complejos, sustancias húmicas (Hessen y Tranvik, 1998; Benner, 2003) y sustancias coloidales que se encuentran en la frontera entre la materia disuelta y la particulada (Romera-Castillo, 2011). Esto se refleja en el rango amplio de pesos moleculares, solubilidad, afinidad y propiedades ópticas de la MOD (Aiken, 2014). Entre el 10 y 25% de la MOD son moléculas identificables de estructura conocida como hidratos de

carbono y grasas, grupos amino e hidroxiácidos. El resto (50-75%) se clasifica en categorías generales tales como sustancias húmicas (SH) y no húmicas (SNH) (Steimberg, 2013). En los sistemas acuáticos la MOD está compuesta por aproximadamente un 20% de SNH (carbohidratos, ácidos carboxílicos, aminoácidos, hidrocarburos, entre otros), mientras que el resto corresponde a SH, generalmente coloreadas (**Fig. i.3**) y derivadas de residuos de origen animal o vegetal o productos de la descomposición microbiana (Hessen y Tranvik, 1998; Steimberg, 2013). A su vez, las SH suelen clasificarse de acuerdo a su solubilidad en: i-ácidos húmicos, solubles a pH inferiores a 2, ii- ácidos fúlvicos, solubles independientemente del pH, y iii- huminas, insolubles en todo el rango de pH (Wetzel, 2001; Steimberg, 2013). Los ácidos fúlvicos son las sustancias húmicas mayoritarias en los ambientes acuáticos y de menor peso molecular (100-2000 daltons) que los ácidos húmicos, los cuales a menudo forman agregados coloidales de alto peso molecular (cerca de los 100.000 daltons) (Hessen y Tranvik, 1998; Steimberg, 2013).



Figura i.3. Composición y propiedades químicas de las sustancias húmicas (Modificado de Stevenson, 1982).

La MOD se complejiza con otros elementos, lo cual tiene un impacto sobre la movilidad y el transporte de los mismos, incrementando por ejemplo, la solubilidad y el transporte de los contaminantes orgánicos, de metales pesados y de otros metales traza (Ravichandran, 2004; Mostafa, 2013; Van Gaelen et al., 2014).

i.1.2 Origen, transporte y transformación de la MOD

En los ecosistemas acuáticos, la MOD puede ser producida por fuentes internas (autóctonas) o por fuentes externas (alóctonas) (Wetzel, 2001). La producción interna de la MOD deriva principalmente de las algas y macrófitas, prevaleciendo el fitoplancton en los ecosistemas lénticos y el biofilm en los ecosistemas lóticos. La liberación de MOD de los organismos acuáticos se produce por varios mecanismos diferentes: (i) senescencia y muerte celular: las sustancias orgánicas fijadas se liberan al agua directamente en forma disuelta o bien como detrito particulado que puede actuar como una fuente secundaria de MOD, (ii) pastoreo: una fracción de la biomasa algal utilizada por los consumidores primarios se libera al medio circundante como resultado de los procesos de ingestión incompleta y de excreción, (iii) lisis viral, o (iv) liberación extracelular de compuestos orgánicos utilizables por microorganismos heterótrofos o transformables en sustratos a través de diversos mecanismos enzimáticos o abióticos (p.e. fotólisis) (Lampert y Sommer, 2007).

La contribución de la MOD autóctona es de gran importancia en los sistemas acuáticos lénticos, resultando particularmente lábil a la degradación bacteriana debido a que está enriquecida en proteínas y polisacáridos (Benner, 2003). En los sistemas lóticos la producción autóctona de MOD es comparativamente menor (Hedges et al., 2000; Benner, 2003), y su contribución fluctúa estacionalmente. Por ejemplo, la producción primaria del biofilm (algas adheridas a diferentes sustratos) en ríos y arroyos aumenta generalmente durante la primavera, produciendo un incremento concomitante en la concentración del COD de hasta el ~35%, debido a la liberación de exudados y productos de la lisis celular (Fischer, 2003).

La MOD alóctona por su parte proviene del ecosistema terrestre y deriva principalmente de los residuos de plantas y suelos, y de los metabolitos primarios y secundarios provenientes de los microorganismos del suelo, resultando una fuente de carbono orgánico, nitrógeno, fósforo y azufre para los sistemas acuáticos (Wetzel, 2001; Aitkenhead-Peterson et al., 2003; Steimberg, 2013). El ingreso de la MOD alóctona a los ambientes acuáticos es mayoritariamente a través del transporte que realizan la escorrentía, las aguas superficiales y las aguas subterráneas, aunque el ingreso directo de hojarasca aporta también MOD por lixiviación (**Fig. i.1**) (Wetzel, 2001). Las fuentes terrestres liberan compuestos estructurales vegetales como la lignina y la celulosa, más recalcitrantes a la degradación biológica que por ejemplo, los azúcares o aminoácidos liberados por las algas (Benner, 2003). Por lo tanto se considera en general que el COD alóctono tiene un carácter más recalcitrante que el COD autóctono (Catalán et al., 2013), aunque las bacterias pueden utilizar las fracciones húmicas y aromáticas como sustrato (Kaplan y Newbold, 2003).

En el océano abierto, la MOD es producto de la producción primaria interna (MOD autóctona), considerándose a estos sistemas fundamentalmente autotróficos (Benner, 2003; Hansell et al., 2009). En cambio los ríos y arroyos, particularmente sus cabeceras, son heterotróficos ya que reciben MOD de producción terrestre (Allan y Castillo, 2007; Aufdenkampe et al., 2011; Mengistu et al., 2013). La cantidad de MOD terrestre y nutrientes que ingresa a los sistemas fluviales se encuentra influenciada por una variedad de factores bióticos y abióticos así como también por las características de las cuencas hidrográficas (Wilson et al., 2013; Kellerman et al., 2014). Entre los factores reguladores más importantes se encuentran la precipitación y la descarga (Agren et al., 2012; Xu et al., 2010, 2012), la cobertura vegetal (Yamashita et al., 2011; Larson et al., 2014; Huang et al., 2015), el tipo de suelo (Kalbitz et al., 2000; Huang et al., 2013), el tamaño y la pendiente de la cuenca (Agren et al., 2012), hidrología de la cuenca (Goodman et al., 2011), entre otras (Van Gaelen et al., 2014). Así, las precipitaciones pueden incrementar la concentración de COD de los sistemas lóticos debido al arrastre de material terrestre (Aitkenhead-Peterson et al., 2003; Sobczak y Raymond, 2015). El uso de la tierra y la cobertura vegetal son determinantes también de la concentración de COD en ambientes fluviales (Cawley et al., 2014; Larson et al., 2014). En general, la modificación antrópica de los ecosistemas se traduce en cambios en la concentración de COD que exporta la cuenca (Aufdenkampe et al., 2011; Meng et al., 2013; Hosen et al., 2014). La deforestación, por remoción de la vegetación, por incendios forestales, la agricultura, los afluentes de aguas residuales entre muchos otros disturbios, alteran los flujos hidrológicos y las fuentes de materia orgánica naturales (Aitkenhead-Peterson et al., 2003; Laudon et al., 2011; Schelker et al., 2014; Van Gaelen et al., 2014). Otros factores que influyen el COD en los suelos y su exportación hacia los arroyos, son la temperatura y la humedad, ambos reguladores de la actividad microbiana (Preston et al., 2011; Winterdahl et al., 2011).

El vulcanismo también afecta las fuentes terrestres de MOD (Witham et al., 2005) dado que la deposición de ceniza volcánica puede abarcar grandes superficies, alterando las condiciones y los procesos ecosistémicos (Ayrís y Delmelle, 2012). Por ejemplo, la vegetación circundante a los volcanes puede sufrir pérdidas por defoliación producto de los flujos piroclásticos (Swanson et al., 2013) como así también incendios generados por las corridas de lava (Hall et al., 1999; Flannigan et al., 2009), incrementando el suministro de carbono a los ambientes acuáticos en un período de tiempo relativamente breve debido al ingreso masivo de material (Ayrís y Delmelle, 2012). Por otro lado, se han registrado

aumentos de la concentración de COD producto de remociones en masa, terremotos, avalanchas de lodo, cenizas y material piroclástico (McKnight et al., 1988; Frank et al., 2015).

La concentración de COD en ríos y arroyos varía aproximadamente entre 0.5 y 50 mg/L, mientras que en los océanos fluctúa en un rango menor, entre 0.5 y 3 mg/L (Hansell et al., 2009; Spencer et al., 2012; Creed et al., 2015). Esto se debe a que en los océanos las fuentes de carbono orgánico terrestre sólo tienen importancia en los ámbitos costeros mientras que las zonas abiertas se encuentran aisladas de la influencia terrestre, sumándose a esto que los tiempos prolongados de residencia del agua incrementan la pérdida COD por sedimentación y mineralización (Benner, 2003; Hansell et al., 2009). En este sentido, en los ecosistemas acuáticos el tiempo de residencia de la MOD determina la importancia relativa de los procesos internos frente a los externos en su dinámica y características (Battin et al., 2009; Kellerman et al., 2014; Cory et al., 2015). En sistemas con tiempos de residencia del agua cortos (de días a semanas), como por ejemplo los arroyos (Del Giorgio y Pace, 2008), la dinámica de la MOD está determinada principalmente por factores externos como la climatología o la posición en el paisaje (Reche y Pace, 2002; Hood et al., 2006; Poff y Zimmerman, 2010). Por el contrario, en sistemas con tiempos de residencia largos, como los océanos y los grandes lagos, la MOD fluctúa dentro del propio sistema debido a que existe un interjuego de procesos que actúan en el tiempo transformándola (Reche, 2003; Steimberg, 2013).

i.1.3 Dinámica de la MOD en las redes fluviales

Para abordar el estudio de la dinámica del transporte de materiales, en particular la MOD, a escala de cuenca focalizando en la conectividad de los sistemas lóticos y el entorno terrestre, es necesario recurrir a algunos principios de ordenamiento básicos. Existen múltiples perspectivas en la estructura de los sistemas lóticos que pueden tenerse en cuenta para el análisis de la dinámica de la MOD y los nutrientes. Un principio de ordenación desarrollado por “geomorfólogos” es el orden jerárquico de Stralher (Stralher, 1957), que clasifica la posición de un determinado sector o tramo fluvial dentro de una red de canales ramificados y resulta un método de ordenación útil para evaluar los procesos que ocurren durante el transporte de MOD río abajo. Otro marco conceptual basado en conocimientos de geomorfología conocido como “*River Continuum Concept*” (RCC) (Vannote et al., 1980) ha servido de referencia a numerosas investigaciones sobre la dinámica trófica de los cuerpos de agua lóticos, incluyendo diversos aspectos del procesamiento de la MOD. En este sentido, el RCC propuso que la materia orgánica en los sistemas lóticos de cabecera influencia a la

estructura comunitaria y a las funciones ecosistémicas aguas abajo. Se hipotetizó en este marco que la diversidad química relativa de los compuestos orgánicos solubles decrecería desde las aguas de cabecera a través del continuo ambiental: la MOD alóctona lábil sería utilizada rápidamente en las aguas de cabecera transportándose aguas abajo la MOD recalcitrante (**Fig. i.4**)

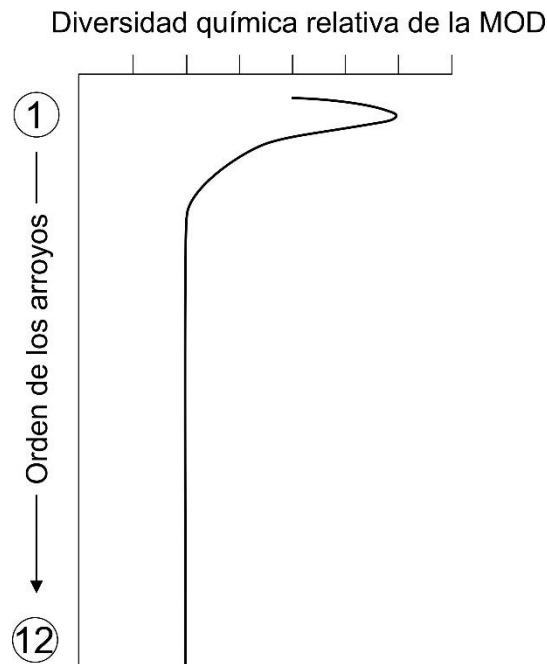


Figura i.4. Cambios en la diversidad química relativa de la materia orgánica disuelta (MOD) con el incremento en orden de los sistemas lóticos en el marco conceptual del “*River Continuum Concept*”. Tomado de Vannote et al. (1980).

Sin embargo, el concepto RCC resultó limitado para explicar la evidencia que surgió posteriormente en relación a la materia orgánica disuelta, su dinámica, transformación y controles climáticos, temporales y espaciales en el seno de las redes fluviales. En este sentido, el RCC asume que la MOD en el sistema lótico se encuentra en estado estacionario y por lo tanto es independiente del tiempo. Las investigaciones más recientes sostienen la importancia de considerar de manera conjunta la dinámica temporal y espacial de la MOD, habiéndose demostrado una estrecha relación entre ambos ejes (Poole, 2010; Raymond y Saiers, 2010; Mengistu et al., 2013). Las nuevas conceptualizaciones se focalizan en las ideas de discontinuidad serial, el rol de los parches y de la importancia de las interacciones en la planicie de inundación (Laudon et al., 2011; Fasching et al., 2014; Van Gaalen et al., 2014 y referencias citadas por estos autores). La visión actual define a la MOD de los sistemas lóticos

como una mezcla compleja de compuestos con influencia sobre los ciclos de los nutrientes, sobre las comunidades microbianas, sobre el transporte de metales y contaminantes, y la calidad del agua (Aiken, 2014). La MOD es concebida como el producto de muchos procesos que la producen, la consumen y la transforman a escala temporal (diaria y decadal) y espacial (desde arroyos de bajo orden hasta ríos de alto orden) (Mengistu et al., 2013; Sobczak y Raymond, 2015). Recientemente, Creed et al. (2015) elaboraron una perspectiva multifocal para el análisis de la MOD en redes fluviales respetando los principios de ordenamiento de los sistemas lóticos propuestos por Strahler (1957), sistema que aún posee validez argumental para explicar una gran variedad de propiedades biológicas y geoquímicas de los sistemas lóticos (Hughes et al., 2011; Downing et al., 2012), reflejando la fuerza de los nexos entre los sistemas terrestres y acuáticos. En este nuevo marco conceptual se propone que si bien la complejidad de las redes fluviales ha puesto en cuestión las premisas del RCC, los ríos y, en sentido más amplio, las redes fluviales, muestran una tendencia a la homogenización química. La quimiostasis se entiende en este marco como la condición en la cual el balance de los procesos biogeoquímicos (p.e. fotosíntesis, respiración, fotooxidación, y adsorción-desorción) va incrementando su capacidad de homogeneizar la MOD a medida que se incrementa el orden del río, y que los procesos hidrológicos de flujo superficial, subterráneo y evapotranspiración causan concomitantemente variabilidad temporal en la descarga. En los sistemas de mayor orden, la influencia de la dinámica de la producción interna autótrófica y heterotrófica es determinante de la producción y transformación de la MOD, procesos que regulan fuertemente su concentración y calidad. Entonces, la influencia de los procesos que ocurren en los ecosistemas terrestres se balancea con los procesos internos lo que se traduce en una mayor estabilidad hidrológica y quimiostasis que los ríos y arroyos de bajo orden, cuya dinámica está fuertemente afectada por factores que operan a nivel de sus cuencas (Hood et al., 2006; Laudon et al., 2011). A lo largo de la red fluvial, las variaciones espacio-temporales en la MOD se deberían al cambio en la dominancia de la regulación hidrológica que conecta a las fuentes de MOD terrestre en las aguas de cabecera hacia una dominancia de procesos biogeoquímicos intrínsecos aguas abajo que, en síntesis, resultarían en la pérdida de MOD aromática y en la ganancia preferencial de MOD alifática (Creed et al., 2015).

i.1.4 Propiedades ópticas de la MOD

Una fracción de la MOD posee grupos funcionales denominados cromóforos, grupos químicos con dobles y triples enlaces, sistemas aromáticos, grupos carbonilo, entre otros, con la capacidad de absorber luz visible y UV, produciendo el "color" en el agua (Hessen y

Tranvik, 1998; Steimberg, 2013). A esta fracción de la MOD se la denomina cromofórica (MODC o CDOM por sus siglas en inglés) (Coble, 2007), y su contenido de cromóforos determina sus propiedades ópticas. La absorción de longitudes de onda del espectro UV por parte de la MODC puede desencadenar procesos de fotodegradación, fotopolimerización o fotomineralización (Mopper et al., 2015) (**Fig.i.5**). La fotodegradación de la MODC (*“photo-bleaching”*, en inglés) es la pérdida de la capacidad de absorber fotones como resultado de la degradación de cromóforos por la exposición a la radiación solar y ocurre en las capas superficiales de los sistemas acuáticos (Zhang et al., 2009; Reche et al., 2000; Benner y Kaiser, 2011; Helms et al., 2014). La pérdida de color de la MOD aumenta la transmisión de la radiación solar, particularmente la RUV hacia estratos más profundos (Morris et al., 1995; Häder et al., 2015), con el potencial de alterar su biodegradabilidad dependiendo de su origen y/o edad (Moran y Covert, 2003; Mopper et al., 2015). Los coeficientes de fotodegradación estarían controlados también por el ambiente iónico (Reche et al., 1999; Mopper et al., 2015), resultando más altos en sistemas con valores de pH elevados. Por lo general, la degradación fotoquímica de la MOD incrementa la transferencia de carbono en la trama trófica debido a que el material aromático se degrada en estructuras más sencillas y fácilmente biodegradables (Tranvik et al., 2000; Moran y Covert, 2003; Catalán et al., 2013). Asimismo, la MOD lábil puede perder reactividad como consecuencia de la fotodegradación debido a su condensación en macromoléculas refractarias (Fasching y Battin, 2012; Catalán et al., 2013). En algunas condiciones relacionadas con la composición de la MOD, se pueden generar cromóforos, proceso que se denomina fotopolimerización o foto-humificación y se refleja en una disminución de la penetración de la RUV en la columna de agua. Por último, la fotomineralización es la conversión abiótica de moléculas de carbono orgánicas a inorgánicas (Moran y Covert, 2003). Este proceso tiene una menor relevancia desde el punto de vista de la atenuación de la RUV, aunque tiene implicancias en la producción y emisión de CO₂ (subproducto de la fotomineralización) desde los ecosistemas acuáticos hacia la atmósfera (Reche, 2000; Steimberg, 2013; Mopper et al., 2015).

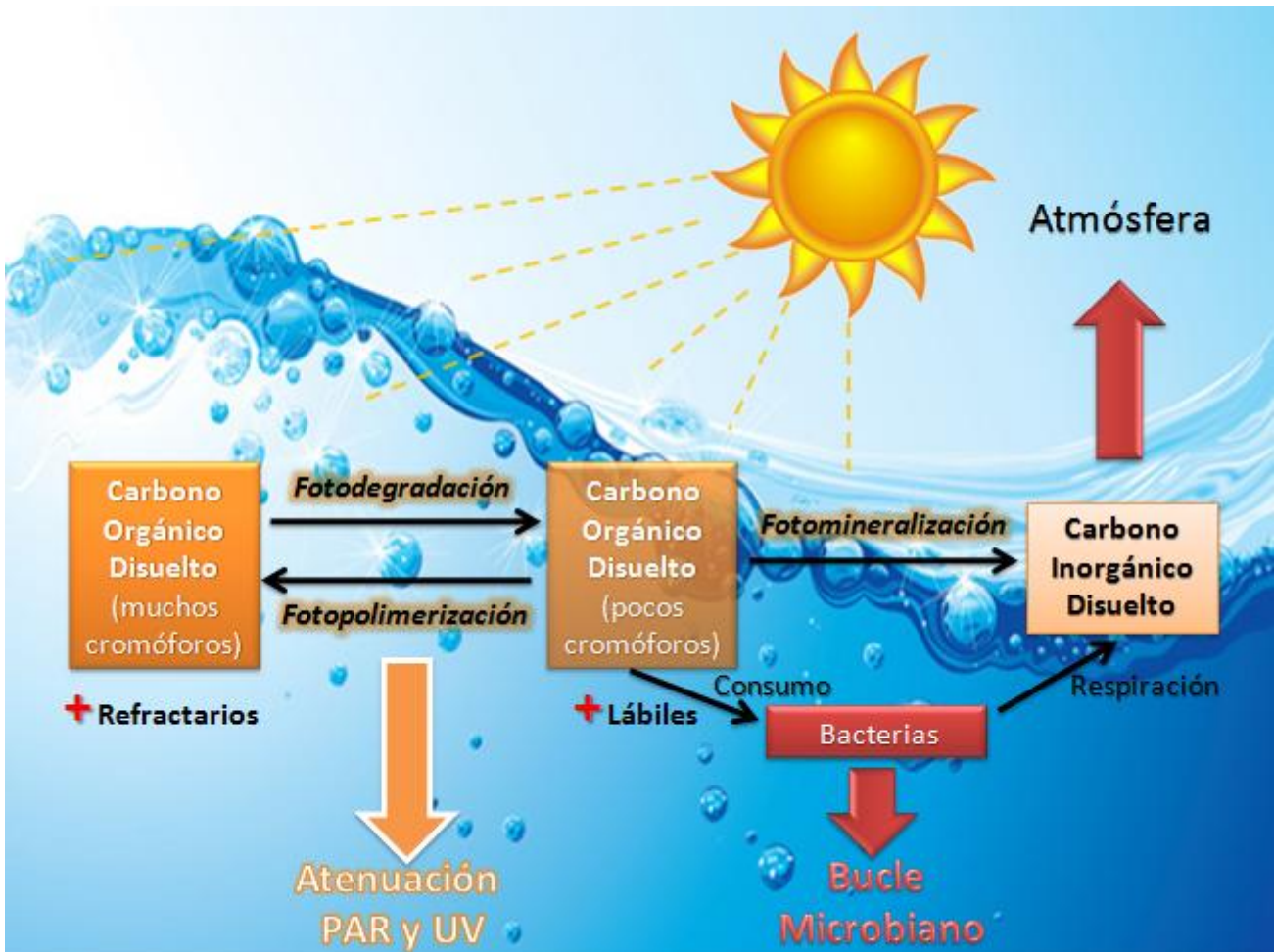


Figura i.5. Efectos de la radiación ultravioleta (RUV) sobre la materia orgánica disuelta (MOD) en los ecosistemas acuáticos (Modificado de Reche, 2000).

i.1.5 La influencia del cambio climático sobre la MOD

Los flujos de materiales y energía son controlados por una serie de interacciones que involucran factores hidroclimáticos, la conectividad hidrológica y también procesos biogeoquímicos complejos (Williamson et al., 2008; Larson et al., 2014; Erikson et al., 2015). El cambio climático afecta profundamente al ciclo biogeoquímico del C que conecta todos los compartimientos del ecosistema global, determinando cambios en la producción y en el transporte de la materia orgánica desde el sistema terrestre a los sistemas acuáticos y en la producción de CO₂ que se acumula en la atmósfera (Raymond et al., 2013; Dick et al., 2014; Erikson et al., 2015).

El aumento del nivel de CO₂ y otros gases de efecto invernadero (ozono, clorofluorocarbonos, óxidos de nitrógeno, metano, etc.) en la atmósfera, ha contribuido a incrementar la temperatura global en 0.85 °C (0.65 a 1.06 °C) durante el último siglo (IPCC, 2014). Las proyecciones del impacto de los cambios en la atmósfera para el año 2100

pronostican un calentamiento paulatino en el rango de 0.3 a 1.7 °C, en un escenario conservador (Moss et al., 2010) y de 2.6 a 4.8 °C en un escenario más drástico (van Vuuren et al., 2011). Esto estaría acompañado por un aumento del nivel del mar de ~0.5 m (Church et al., 2013), el incremento de la alternancia entre períodos secos y húmedos con prevalencia de sequías prolongadas, y mayor incidencia de eventos climáticos extremos (tormentas) (IPCC, 2014).

El cambio climático tiene consecuencias importantes para los ecosistemas acuáticos, con efectos inmediatos debidos a los cambios en las temperaturas y los regímenes de flujo; y efectos más sutiles debido a cambios en la vegetación de ribera, la química del agua y las interacciones entre especies (Häder et al., 2015) (**Fig. i.6**). Por ejemplo, el calentamiento global ha reducido la superficie de permafrost, lo que se refleja en el ingreso de grandes volúmenes de materia orgánica inactiva al ciclo del C, que se degradan en los suelos y cuerpos de agua liberando enormes cantidades de CO₂ a la atmósfera (Raymond et al., 2013; Fasching et al., 2014; Erikson et al., 2015).

La proyección del impacto del cambio climático sobre los escenarios ambientales futuros contempla variaciones en las precipitaciones, en la escorrentía y en la evapotranspiración ambiental producto del aumento de las temperaturas (IPCC, 2014; Erikson et al., 2015; Häder et al., 2015). Algunos modelos climáticos predicen un aumento en la intensidad de las precipitaciones torrenciales, eventos que ya se han observado durante el último siglo en diferentes regiones del mundo (Sun et al., 2007; Tranvik et al., 2009; IPCC, 2014). Debido al incremento de la temperatura, se espera que los arroyos que se originan de glaciares experimenten un aumento en el caudal a lo largo de años o décadas, seguido de descensos del mismo cuando el hielo se agote. En las regiones donde históricamente se acumulaba una capa de nieve en invierno, las temperaturas actuales más cálidas generan una escorrentía temprana alterando los lavados del suelo (Erikson et al., 2015). El incremento de la temperatura, cambios en las precipitaciones en la incidencia de lluvias torrenciales, etc., unido a factores antrópicos, produce alteraciones en la transferencia de materiales terrestres desde las cuencas hacia los cuerpos de agua (Raymond et al; 2013; Fasching et al., 2014; Erikson et al., 2015; Häder et al., 2015).

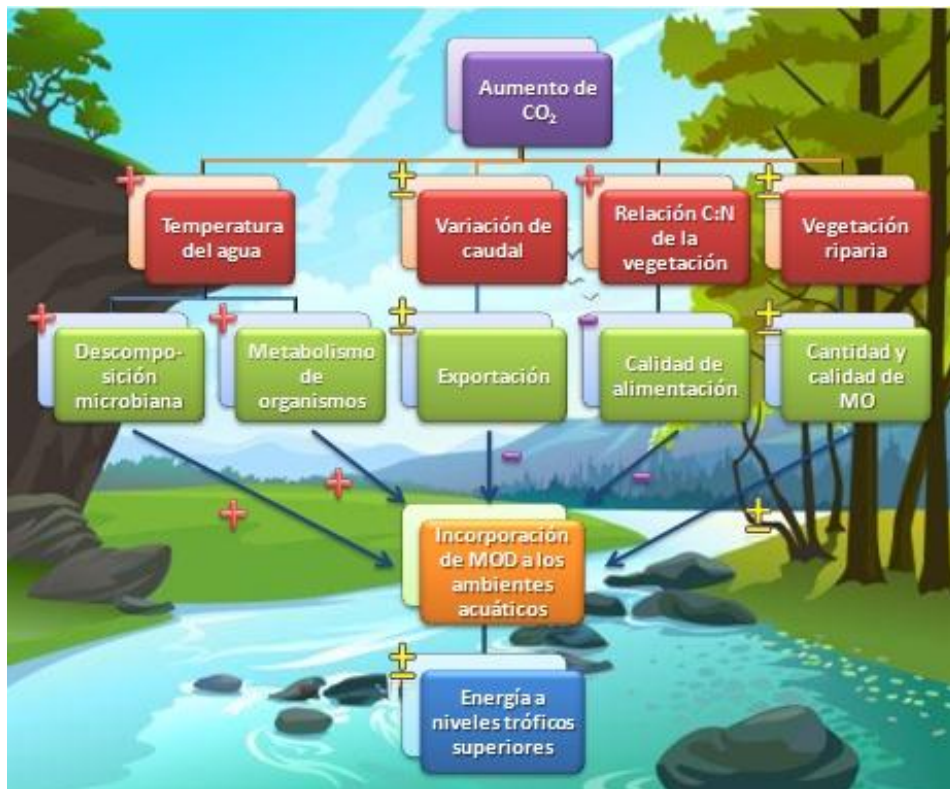


Figura i.6. Impacto potencial del aumento del CO₂ y efectos en cascada en ambientes acuáticos continentales. +: Influencia positiva; -: Influencia negativa; ±: Incertidumbre (Modificado de Allan y Castillo, 2007).

Las previsiones climáticas para las próximas décadas para la región patagónica (Argentina) incluyen el incremento de las temperaturas, en particular las de verano, y una reducción de las precipitaciones (Villalba et al., 2012). Se estima que el aumento de las temperaturas de verano para fines del siglo 21 oscilará entre 1 y 2.5 °C, acompañado por una reducción de las precipitaciones estivales que, dependiendo de la ubicación geográfica, oscilará entre el 10 y el 20% (IPCC, 2014). Esta tendencia ya se puede observar en la región desde mediados del '70, habiéndose registrado un aumento escalado de 1 °C en la temperatura de verano a partir del año 1977 (Villalba et al., 2003). Esto se ha evidenciado especialmente a través de la recesión de los hielos continentales, relacionada con el efecto combinado del aumento de la temperatura y la disminución de la precipitaciones (Villalba et al., 2003, 2012; Masiokas et al., 2008). Por otra parte, en las últimas décadas se han registrado aumentos en la frecuencia de eventos climáticos extremos como por ejemplo sequías prolongadas, existiendo evidencias dendrocronológicas de sequías importantes en la región andino-patagónica en al menos 6 períodos del siglo pasado (Kitzberger et al., 2014). Además existen evidencias de un incremento en la frecuencia de tormentas eléctricas que se refleja en un aumento sustancial de

los incendios forestales en la región andino-patagónica asociado con una mayor actividad de las tormentas convectivas de verano generadas por temperaturas más cálidas (Mundo et al., 2013).

i.1.6 Arroyos y lagos como centinelas del cambio climático

Para comprender los efectos que el cambio climático puede ejercer a nivel ecosistémico es importante reconocer los procesos sobre los que opera el clima. Los sistemas acuáticos continentales revelan a través de las fluctuaciones en sus características químicas (concentración de MOD y nutrientes), e hidrológicas (caudal), información crítica sobre los procesos de la biosfera en general (Adrian et al., 2009). El agua de los ecosistemas continentales evidencia señales indicativas de procesos y/o disturbios pasados y presentes en sus cuencas que permiten inferir el impacto futuro de cambios en factores ambientales como los que actualmente rigen el cambio global (Williamson et al., 2008). Es por ello que los lagos y arroyos son considerados integradores (Leavitt et al., 2009), centinelas (Adrian et al. 2009) y, en cierta medida, reguladores del cambio ambiental (Tranvik et al., 2009; Williamson et al., 2012).

Los sistemas acuáticos andinos de la Patagonia representan un modelo interesante para analizar la conectividad con la cuenca y particularmente el subsidio de materiales terrestres, el aporte de MOD, su dinámica estacional y transformación en relación con factores climatológicos como las precipitaciones y los niveles naturales de radiación incidente. Las cuencas de la región poseen una red de drenaje que vincula una gran variedad de ambientes, con aguas de cabecera que escurren a ambos lados de los Andes (pendientes Pacífica y Atlántica) y nacientes por arriba de la línea de vegetación (Daniel y Veblen, 2003; Albariño et al., 2009). En muchos casos la red de drenaje incluye lagos de montaña o arroyos transitorios de deshielo, originados en las altas las cumbres. Estos sistemas cruzan suelos rocosos o pobremente desarrollados y áreas cubiertas por bosques densos deciduos y caducifolios de especies endémicas arbustivas y arbóreas del género *Nothofagus* (Paruelo et al., 1998a), que constituyen la mayor fuente de materia orgánica y nutrientes de las cuencas hidrográficas regionales (Albariño y Díaz Villanueva, 2006; Albariño et al., 2009; Mariluan et al., 2015). Este material es transportado finalmente hacia los lagos pedemontados profundos (Quirós y Drago, 1999; Queimaliños et al., 2012).

Los ecosistemas acuáticos patagónicos son ambientes únicos modelados por las temperaturas bajas, una elevada exposición a la radiación solar y por la escasez de nutrientes y MOD (Morris et al., 1995; Marinone et al., 2006; Modenutti et al., 2008; Mladenov et al.,

2011; Queimaliños et al., 2012). Estos ambientes son considerados ultraoligotróficos debido a su fuerte limitación por nutrientes (Pedrozo et al., 1993) y se encuentran entre los sistemas acuáticos más improductivos del mundo. En los sistemas lóticos andino-patagónicos, la penetración de la luz está regulada por la presencia de bosques en galería (Albariño et al., 2009), sin embargo, los elevados niveles de radiación solar resultarían un factor inhibitor en las cabeceras debido al incremento altitudinal de la radiación incidente (Diaz et al., 2014) y a la ausencia de vegetación riparia. Estos niveles de radiación solar incidente favorecen las reacciones fotoquímicas, influenciando diversos procesos biogeoquímicos tanto en el medio terrestre como en el acuático (Häder et al., 2015).

A una escala regional, la dinámica de las cuencas andinas se encuentra modelada por disturbios frecuentes generados por el vulcanismo (Daga et al., 2008, 2014) como así también por eventos que actúan a nivel local, como las remociones en masa, las avalanchas (Daniels y Veblen, 2003) y los incendios (Kitzberger et al., 2014). El Parque Nacional Nahuel Huapi (PNHN) se localiza en una zona de los Andes conocida como Zona Volcánica Sur (SVZ, por sus siglas en inglés), bajo la influencia de varios volcanes activos, con alta frecuencia de erupciones que han sido registradas desde el siglo 18 (Daga et al., 2008) (**Fig. i.7**). En el área del Parque Nacional Nahuel Huapi se han determinado tres fuentes de material volcánico a partir del análisis de perfiles sedimentarios de diferentes lagos del PNHN: El complejo Puyehue-Cordón Caulle (PCC) y los volcanes Chaitén y Calbuco. Estos fenómenos de vulcanismo son reconocidos como determinantes de las propiedades del suelo a nivel regional (Diehl et al., 2003) y afectan la biota terrestre (Chaneton et al., 2014) y acuática (Modenutti et al., 2013), induciendo cambios a nivel de las comunidades y causando disrupciones en las interacciones ecológicas (Elser et al., 2015).

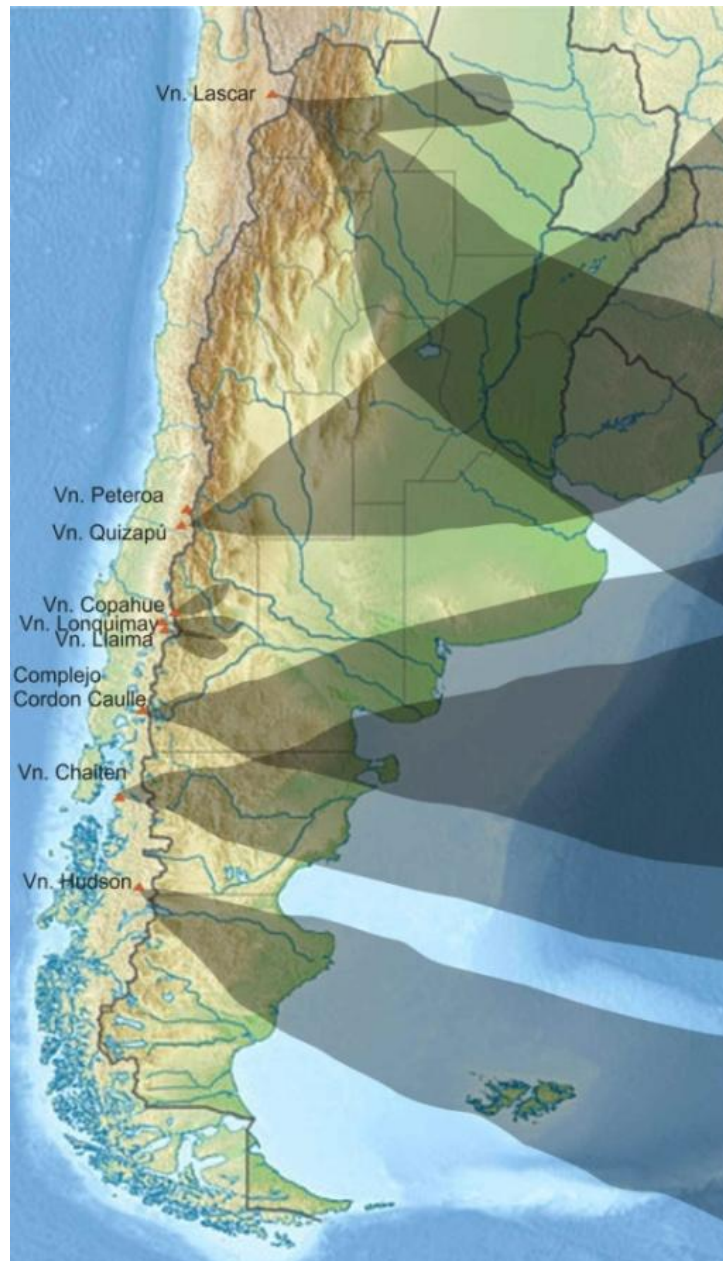


Figura i.7. Mapa de Argentina con la dispersión de ceniza en los últimos 80 años a partir de las erupciones de los volcanes: Lascar (1993, 1996, 2000), Peteroa (1991, 2010), Quizapú (1932), Copahue (1992, 1995, 2000), Lonquimay (1986), Llaima (1994, 2008, 2009), Complejo Cordón Caulle (1960, 2011), Chaitén (2008, 2009) y Hudson (1991, 2011) (Tomado de <http://www.idean.gl.fcen.uba.ar/?p=2417>).

i.1.7 Fundamentación del estudio

Esta investigación constituye un primer abordaje de la dinámica de la transferencia de materiales disueltos en una cuenca andina forestada a través de su red fluvial hacia un complejo lacustre pedemontano. El estudio de la MOD en sistemas acuáticos patagónicos se ha centrado hasta el momento en cuerpos de agua lénticos, incluyendo lagos profundos y

someros de la región andina y lagos someros y lagunas de meseta. El primer estudio que abordó el análisis de la MOD en la región patagónica, indicó que ésta controla el clima óptico subacuático (Morris et al., 1995) y, en conjunto con el seston y la clorofila, contribuye a atenuar la radiación visible (Pérez et al., 2010, 2012). Queimaliños et al. (2012) demostraron que la contribución de MOD alóctona en los lagos profundos está determinada por el régimen de precipitaciones y por el deshielo e impacta a las comunidades planctónicas que muestran diferencias estacionales en sus niveles de aloctonía. Este patrón también se reproduce en lagos someros de la región donde las variaciones interanuales en la precipitación inducen cambios en la contribución de MOD alóctona, con influencias en la estructura de los productores primarios (Bastidas Navarro y Modenutti, 2012).

Si bien se puede inferir que los sistemas lóticos de la región ejercerían un rol importante en la conectividad, el transporte y transformación de materiales alóctonos, son escasos los estudios en los que se analiza la dinámica del ingreso de materiales, especialmente de la fracción disuelta. En este sentido, las evidencias que se encuentran en la literatura señalan la extrema limitación por nutrientes de los arroyos andinos y la importancia del material particulado alóctono proveniente de los bosques deciduos de *Nothofagus* para el mantenimiento de la biota acuática (Albariño et al., 2009; Díaz Villanueva et al., 2010; Mariluan et al., 2015).

Los ecosistemas patagónicos en general son prístinos y actualmente se encuentran bajo condiciones climáticas cambiantes, principalmente debido el aumento de las temperaturas generado por el calentamiento global (Villalba et al., 2003; Masiokas et al., 2008), variaciones en las precipitaciones (Villalba et al., 2012; IPCC, 2014) y elevados niveles de radiación solar incidente (Díaz et al., 2014). La magnitud de los efectos del clima fluctuante dependería de las características ecosistémicas particulares, incluyendo sus cuencas, la morfometría del ambiente y el tiempo de residencia del agua, variables que regulan la interacción con el sistema terrestre y el procesamiento de los materiales en los sistemas acuáticos (Queimaliños et al., 2012).

Esta investigación propone analizar la magnitud, la calidad y la dinámica del aporte y transporte de materiales de la cuenca en cuatro arroyos andinos de bajo orden, Casa de Piedra, De la Virgen, Goye y López, que drenan una cuenca boscosa prístina hacia un complejo lacustre que incluye los lagos Moreno Este y Oeste, dentro del Parque Nacional Nahuel Huapi. En particular, se focaliza en el estudio de la dinámica espacio-temporal y en los controles hidrológicos y bioquímicos de la MOD y los nutrientes en los cuatro arroyos.

i.2 OBJETIVOS

Esta tesis tiene como objetivo general la caracterización de las fuentes alóctonas en sistemas lóticos andino-patagónicos, focalizando en cuatro arroyos de cabecera que drenan una cuenca forestada conectando lagos y arroyos de altura con el complejo lacustre Moreno Este y Oeste (Parque Nacional Nahuel Huapi). Particularmente, se propone establecer la dinámica estacional de los nutrientes y de la MOD en los arroyos Casa de Piedra, Goye, López y De la Virgen, abordando además la incorporación y caracterización de la MOD a lo largo de un gradiente de altitudinal en el A° Casa de Piedra.

Esta investigación evalúa la dinámica conjunta de ecosistemas terrestres y acuáticos andino-patagónicos a través del análisis cuali-cuantitativo del flujo de nutrientes y de MOD terrestre hacia los lagos pedemontanos. Además, se analiza empíricamente la transformación de la MOD alóctona por el efecto de agentes físicos y biológicos, particularmente los procesos de foto y biodegradación.

i.2.1 Objetivos específicos

- 1-Analizar la dinámica estacional del ingreso de MOD, nutrientes y material particulado al complejo lacustre Moreno, a través de los arroyos Casa de Piedra, Goye, López y De la Virgen.
- 2-Characterizar el transporte de MOD, de nutrientes y de material particulado a lo largo del gradiente longitudinal en el A° Casa de Piedra, abarcando desde su nacimiento en la laguna Jakob hasta la pluma de su desembocadura en el lago Moreno Este. Caracterizar el ingreso de MOD en las desembocaduras y plumas de los arroyos López y De la Virgen.
- 3-Analizar empíricamente la transformación de la MOD proveniente del suelo y de la hojarasca por acción de microorganismos y de la exposición a la radiación solar.

En base a los antecedentes expuestos y a los objetivos planteados, se plantean las siguientes hipótesis y predicciones:

- 1-En los arroyos norpatagónicos, la concentración y la calidad de la MOD y de los nutrientes se encuentran determinadas por la marcada estacionalidad del régimen de precipitación de la región. Por lo tanto, el ingreso de MOD y nutrientes desde la cuenca hacia los arroyos tendrá pulsos dados por la frecuencia y la intensidad de los eventos de lluvia.

- 2- La MOD proveniente de los cuatro arroyos presenta un fuerte componente alóctono. Los indicadores de aloctonía serán particularmente elevados durante el otoño, época de máxima precipitación y escorrentía, y menor contribución de la producción primaria de los arroyos.
- 3-Las subcuencas de los cuatro arroyos presentan homogeneidad en cuanto a cobertura y estructura vegetal. La dinámica de la MOD en los cuatro arroyos será semejante en términos de concentración y calidad.
- 4-La deposición de ceniza volcánica proveniente de la erupción del complejo volcánico Puyehue Cordón-Caulle sobre la cuenca de estudio afecta la dinámica de los materiales en los arroyos. Los arroyos presentarán aumentos en la concentración de sólidos totales en suspensión y presentarán cambios en la concentración de nutrientes, y en la cantidad y calidad de la MOD.
- 5-Los suelo y la vegetación en el gradiente altitudinal que incluye la cuenca del arroyo Casa de Piedra son heterogéneos, es por ello que el arroyo Casa de Piedra presentará variaciones en la concentración y calidad de la MOD a lo largo de su eje longitudinal.
- 6-La MOD proveniente del lixiviado de los suelos de la cuenca y de la hojarasca presenta diferencias en cuanto a composición, lo cual se reflejará en firmas espectrales particulares y discernibles entre sí.
- 7-El origen y la composición de la MOD le otorgan distintos grados de vulnerabilidad frente a los procesos degradativos. La MOD proveniente de la hojarasca presentará menor resistencia que los lixiviados de suelo frente a los fenómenos de fotodegradación y a la biodegradación.

MATERIALES Y MÉTODOS GENERALES



M.1 INTRODUCCIÓN

El análisis limnológico de los sistemas lénticos y lóticos requiere de un conocimiento detallado de la morfometría y de los parámetros físico-químicos que permiten no sólo describir el sistema, sino que también son necesarios para comprender la dinámica del mismo. Así, es básico conocer la profundidad, ancho, caudal y características de las costas para comprender resultados biológicos, químicos y físicos del sistema. La mayoría de las técnicas para obtener los parámetros limnológicos básicos han sido estandarizadas hace mucho tiempo (Wetzel y Likens, 1991), mientras que continuamente se generan nuevas técnicas para estudios de caracterización detallada de calidad y composición de la materia orgánica disuelta (MOD). Esto se debe al rol central de la MOD en la determinación de propiedades físicas y químicas del agua y como sostén de la trama trófica microbiana (ver Introducción general) (Aiken y Leenheer, 1993; Aiken, 2014).

La caracterización de las aguas naturales desde la perspectiva de paisaje, requiere de una serie de métodos analíticos que produzcan información sobre concentraciones y que permitan establecer el origen y la transformación de los materiales en el sistema. En particular, el análisis del flujo y la transferencia de materiales desde el medio terrestre a las redes fluviales implica abordar el estudio de los patrones de transferencia del carbono de la producción terrestre al medio acuático, ligados a procesos biogeoquímicos y a la acción transformadora de variables climáticas (Cole et al., 2007; Creed et al., 2015). En este sentido, el estudio de la MOD es central ya que la producción acuática y especialmente la dinámica trófica de los sistemas lóticos de bajo orden depende en gran medida del ingreso de materiales alóctonos. La materia orgánica alóctona es movilizadada desde la cuenca principalmente como MOD. En las aguas naturales, casi todo el carbono orgánico se encuentra como carbono orgánico disuelto (COD) (Wetzel, 1984).

Existe una evolución continua en los enfoques analíticos para determinar la composición, el origen y la reactividad de la MOD debido al advenimiento de nuevas tecnologías. Sin embargo, las propiedades de absorción de la luz y de fluorescencia de la MOD han permitido un gran avance en el conocimiento y la caracterización de la MOD mediante parámetros basados en la absorción y fluorescencia, que son indicadores o proxies de diferentes aspectos de la MOD como el tamaño molecular, el origen y su estado diagenético (Weishaar et al., 2003; Spencer et al., 2009; Aiken, 2014). Los análisis de espectroscopía de absorción y de fluorescencia proveen datos de alta resolución sobre diferentes aspectos de la MOD y su uso extensivo ha permitido el desarrollo de protocolos

estándar cuya aplicación asegura la intercomparación de resultados (Cory et al., 2010; Ishii y Boyer, 2012; Murphy et al., 2014).

La espectrofotometría UV-visible es una técnica analítica muy sencilla y accesible que permite estimar la concentración y la calidad de un compuesto en solución (Morris et al., 1995; Weishaar et al., 2003; Spencer et al., 2009) y resulta un instrumento valioso para la determinación y caracterización de biomoléculas (Aiken, 2014). Los métodos espectroscópicos se basan en la capacidad de las moléculas para absorber diferentes longitudes de onda, entre ellas las radiaciones dentro del espectro UV-visible. Las longitudes de onda que una molécula puede absorber y su eficiencia de absorción dependen de su estructura atómica y de las condiciones del medio (pH, temperatura y fuerza iónica).

Cuando la energía de la luz es absorbida por una molécula se produce un salto desde un estado energético basal o fundamental (E_1), a un estado de mayor energía o estado excitado (E_2). Cada molécula tiene una serie de estados excitados o bandas que la distingue del resto de moléculas y, consecuentemente, la absorción que presenta una molécula a distintas longitudes de onda (su espectro de absorción) constituye una señal de su identidad. La MOD es un conjunto muy heterogéneo de moléculas orgánicas con propiedades ópticas particulares, por lo cual los espectros de absorción se encuentran ampliamente difundidos para su caracterización (Benner, 2003; Weishaar et al., 2003; Helms et al., 2008; Spencer et al., 2009, 2012). Los compuestos con dobles enlaces aislados, enlaces triples, enlaces peptídicos, sistemas aromáticos, grupos carbonilos y otros heteroátomos tienen su máxima absorbancia en la región UV, disminuyendo exponencialmente hacia longitudes de onda mayores (Aiken, 2014). Debido a esto, la región UV es muy importante para la determinación cualitativa y cuantitativa de compuestos orgánicos (Del Vecchio y Blough, 2002).

El estado excitado de los cromóforos luego de la absorción de luz, tiene un tiempo de vida breve (10^{-8} a 10^{-9} segundos) produciéndose luego la relajación o retorno al estado energético basal. Uno de los procesos de relajación es la conversión de la energía de excitación en calor. Otra es la descomposición de la molécula o especie química excitada en una nueva especie química, lo que se denomina reacción fotoquímica o fotodegradación (Aiken, 2014). Como se describió anteriormente, la fotodegradación puede transformar la MOD y afectar la transferencia de carbono en la trama trófica al incrementar su labilidad. Por último, otra forma de recuperación del estado fundamental puede producir la emisión de fotoluminiscencia (Lakowicz, 2006). La espectrometría de fluorescencia (también llamada fluorimetría o espectrofluorimetría) es una técnica que analiza la fluorescencia de una muestra (McKnight et al., 2003; Fellman et al., 2010) y resulta útil para la caracterización de

los compuestos orgánicos fluorescentes (McKnight et al., 2003). Se definen como fluoróforos a las moléculas que emiten luz absorbida a longitudes de onda más altas (Mopper et al., 1996) y se denomina MODF a la fracción de la MOD que fluoresce (Mopper et al., 1996; Lakowicz, 2006; Kowalczyk et al., 2010) (**Fig. M.1**).

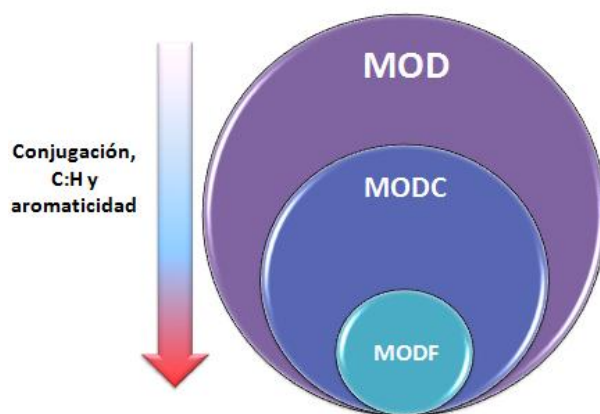


Figura M.1. Fracciones de la MOD, MOD coloreada (MODC) y fluorescente (MODF). La flecha indica el incremento de la aromaticidad, de la conjugación y de la proporción carbono:hidrógeno (C:H) (Modificado de Stedmon y Álvarez-Salgado, 2011).

La técnica de espectrofluorimetría trabaja con las transiciones desde el estado excitado al estado basal de las moléculas y es complementaria a la espectrometría de absorción, que mide las transiciones desde el estado basal al estado excitado (Lakowicz, 2006). Los dispositivos que miden la fluorescencia se llaman fluorómetros o fluorímetro y utilizan un haz de luz, por lo general la fracción ultravioleta, para excitar los electrones de las moléculas de ciertos compuestos, provocando que emitan luz de menor energía (mayor longitud de onda) (Aiken, 2014). Mediante la espectrometría de fluorescencia se obtienen las diferentes frecuencias de luz emitida, junto con sus intensidades relativas, pudiéndose determinar la composición de la materia orgánica (McKnight et al., 2003; Stedmon et al., 2003; Jaffé et al., 2008; Fellman et al., 2010). A bajas concentraciones, la intensidad de fluorescencia es por lo general proporcional a la concentración del fluoróforo (Del Vecchio y Blough, 2002; Catalán et al., 2014). El análisis fluorométrico de la MOD se realiza mediante la obtención de espectros de emisión, de espectros sincrónicos y de matrices tridimensionales de espectros de excitación-emisión (EEMs, por sus siglas en inglés).

La espectroscopía de absorción y de fluorescencia son técnicas de alta resolución y relativamente rápidas que han permitido un avance importante en la caracterización de la dinámica de la MOD en una diversidad de ambientes acuáticos (Del Vecchio y Blough, 2002;

Hood et al., 2006; Coble, 2007; Jaffé et al., 2008; Yamashita et al., 2010; Inambar et al., 2012) y también en aguas residuales (Hudson et al., 2007; Henderson et al., 2009).

M.2 ÁREA DE ESTUDIO GENERAL

Este estudio fue desarrollado en la cuenca del complejo lacustre Moreno ($45^{\circ} 04' S$, $71^{\circ} 31' O$), de pendiente atlántica, dentro del Parque Nacional Nahuel Huapi, situado en la zona norte del distrito de los lagos glaciares en los Andes Patagónicos (Iriondo, 1989). El complejo lacustre Moreno está formado por dos lagos profundos (profundidad máx ≥ 90 m), los lagos Moreno Este (ME) y Moreno Oeste (MO), y el lago somero Morenito (profundidad máx = 12 m). Los lagos ME y MO poseen una superficie de aproximadamente 6 km^2 cada uno, mientras que el lago Morenito posee un área de 0.4 km^2 (Alonso et al., 2003; Diéguez et al., 2013; Soto Cárdenas et al., 2014). Los tres lagos se encuentran unidos por conexiones estrechas que aumentan con los niveles del agua. El lago MO recibe las aguas de los lagos ME y Morenito, y desagua finalmente en el lago Nahuel Huapi (área = 557 km^2) que drena por el río Limay (**Fig. M.2**). El área de drenaje del complejo lacustre Moreno es de aproximadamente 141 km^2 , correspondiendo la mayor parte al área de drenaje del lago ME ($\sim 117 \text{ km}^2$) que recibe tres arroyos principales: Casa de Piedra, De la Virgen y Goye (Bessera y Moretti, 1993; Queimaliños et al., 2012) (**Fig. M.3**). El lago MO posee un área de drenaje de aproximadamente 24 km^2 y recibe un único afluente principal, el arroyo López (Queimaliños et al., 2012) (**Figs. M.2 y M.3**).

El A° Casa de Piedra es el cuerpo lóxico más importante de la cuenca del complejo lacustre Moreno, drenando una subcuenca de 65.48 km^2 , con un recorrido de 16.6 km en un gradiente altitudinal, desde los 1576 m s.n.m desde su nacimiento (laguna Jakob), hasta los 768 m s.n.m. en su desembocadura en el lago ME (García et al., 2015a y b). Este arroyo recibe el aporte de tres lagunas de altura, las lagunas Témpanos (1675 m s.n.m), Jakob (1576 m s.n.m.) y Navidad (1800 m s.n.m.), y tiene como afluente al A° Rucaco, de 7 km de longitud. El A° Casa de Piedra es el colector principal de una cuenca que drena los faldeos de los cerros Goye, Catedral (sector occidental) y Tres Reyes.

El A° Goye es el segundo arroyo más importante de la cuenca con 11.4 km de longitud y un área de drenaje de 40.22 km^2 que incluye faldeos de los cerros Navidad, Negro, Bailey Willis, López y Goye, recibiendo además el aporte de un lago de altura (laguna Negra), localizada a 1600 m s.n.m. (**Fig. M.3**) (García et al., 2015b). El arroyo De la Virgen, de 3.6 km de longitud y un área de drenaje de 6.99 km^2 , es el único arroyo de la cuenca del complejo

lago Moreno que nace por debajo de la línea de vegetación (1600 m s.n.m.), entre los cerros Goye y Bella Vista (**Fig. M.3**).

El A° López por su parte, nace a los ~1620 m s.n.m. sobre el cerro del mismo nombre, recorriendo 3.2 km hasta su desembocadura en el lago Moreno Oeste, drenando en su recorrido un área de 9.46 km² (García et al., 2015b). Tanto el arroyo López como el arroyo De la Virgen se originan directamente del derretimiento de los paquetes de nieve, así como por la entrada de arroyos pequeños, en su mayoría temporarios. Estos dos últimos arroyos drenan sólo el 14% de la cuenca del complejo lago Moreno, mientras que el restante 86% es drenado a través de los dos arroyos de mayor envergadura: Casa de Piedra y Goye (**Fig.M.3**) (García et al., 2015b).

La cuenca del complejo lacustre Moreno posee relieve montañoso y cobertura boscosa en la mayor parte del área de drenaje (68%) (Queimaliños et al., 2012). El suelo dominante de la cuenca corresponde al orden de los Andisoles con depósitos de cenizas volcánicas y productos piroclásticos, con alta capacidad de retención de agua (>35%) (Bessera y Moretti, 1993). Las subcuencas de este complejo poseen el mismo tipo de cobertura vegetal en el gradiente altitudinal. La vegetación es típica del borde xérico de los bosques templados presentes a ambos lados de los Andes cercanos a los 40° S (Daniels y Veblen, 2003; Albariño et al., 2009). Por encima de los 1600 m s.n.m., las pendientes son importantes y predominan los afloramientos de roca madre, por lo que la cobertura vegetal es escasa, representada en su mayoría por herbáceas de ciclo anual. En las laderas entre los 1600 y 1400 m s.n.m. se encuentran matorrales de lenga (*Nothofagus pumilio*) de entre 1.5 a 2.5 m de altura que conforman un estrato monoespecífico de alta densidad. Entre los 1400 y 900 m s.n.m. las laderas se encuentran ocupadas por morfotipos arbóreos de lenga que dominan un bosque de 15 a 25 m altura (Daniels y Veblen, 2003). El sector definido entre el lago Moreno a 790 m s.n.m. y los 900 m s.n.m. es caracterizada por una cobertura de bosque mixto de coihue (*N. dombeyi*) y ciprés (*Austrocedrus chilensis*) y un sotobosque abundante (Bessera y Moretti, 1993).

El lecho de los arroyos esta caracterizado por la presencia de rocas de tipo canto rodado de tamaño variado (64–256 mm) y de bloques (>256 mm). Si bien no existen registros previos de calidad de agua de los sistemas lóticos abarcados en este estudio, trabajos realizados en arroyos próximos al área de estudio han mencionado que las aguas de los arroyos poseen concentraciones bajas de electrolitos y nutrientes, baja conductividad, pH neutral y niveles altos de oxígeno disuelto (Bessera y Moretti, 1993; Pedrozo et al., 1993; García y Añon Suárez, 2007; Mariluan et al., 2015).

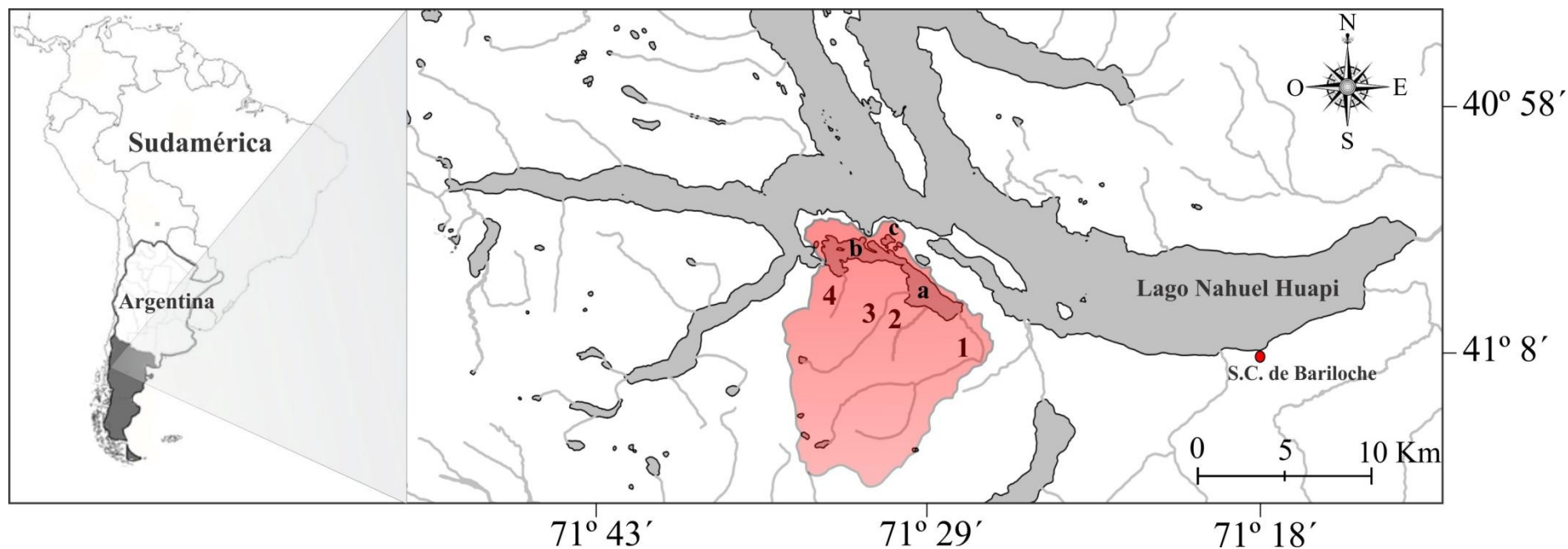


Figura M.2. Localización geográfica del área de estudio dentro del Parque Nacional Nahuel Huapi (Patagonia, Argentina). El sector rosa indica el área de drenaje del complejo lacustre Moreno:(a) Lago Moreno Este; (b) lago Moreno Oeste; (c) lago Morenito; y los cuatros arroyos tributarios (1) A° Casa de Piedra; (2) A° De la Virgen; (3) A° Goye y (4) A° López.

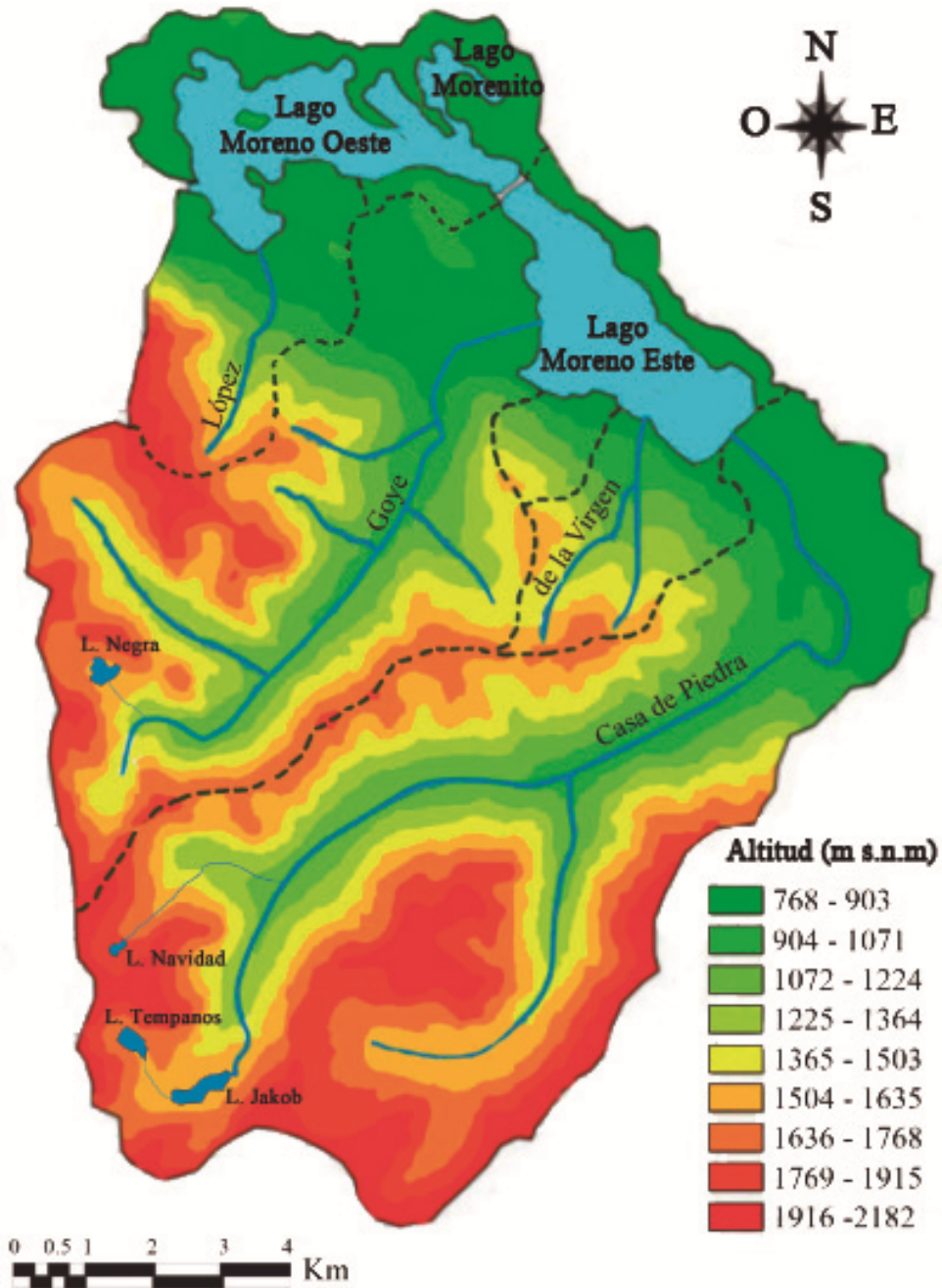


Figura M.3. Cuenca del complejo lago Moreno y las sub-cuencas que drenan los arroyos Casa de Piedra, De la Virgen, Goye y López (Parque Nacional Nahuel Huapi, Patagonia, Argentina) (Modificado de Queimaliños et al., 2012).

El clima de la región es templado-frío con el máximo de precipitación en la estación fría (Pedrozo et al., 1993; Paruelo et al., 1998a). La precipitación media anual es de 1550 mm, disminuyendo en forma pronunciada de Oeste a Este y presenta una marcada estacionalidad, concentrándose en los meses de otoño e invierno (Paruelo et al., 1998b). Las temperaturas son típicas de una región templado-fría. Los inviernos son húmedos y fríos, con heladas y

precipitaciones níveas. Los veranos son cálidos y secos, aunque son frecuentes las precipitaciones torrenciales. La nieve acumulada en cotas altas o paquete níveo, permanece congelada hasta la primavera cuando comienza el deshielo (Queimaliños et al., 2012). Las primaveras son ventosas, con vientos dominantes del sector Oeste-Noroeste provenientes del anticiclón del Pacífico (Paruelo et al., 1998a). La incidencia máxima de la radiación solar coincide con la estación seca (Díaz et al., 1994; 2006).

Los cuatro arroyos estudiados responden al régimen típico de los arroyos de montaña andino-patagónicos, con dos picos estacionales de crecida muy marcados, uno durante la primavera relacionado con el deshielo primaveral y otro hacia fin del otoño producido por las precipitaciones pluviales de otoño. En estos períodos los arroyos presentan características torrenciales, que pueden agravarse con las lluvias tardías, produciendo arrastre de material de granulometría muy variada (Bessera y Moretti, 1993).

M.3 SITIOS DE MUESTREO

Para el desarrollo del estudio estacional, cada uno de los cuatro arroyos que drenan la cuenca del complejo lacustre Moreno, Casa de Piedra, Goye, López y De la Virgen, fue relevado al menos una vez por mes, en un punto cercano a su desembocadura (ver detalle en el Capítulo I) durante 28 meses, desde mayo de 2011 hasta septiembre de 2013. En la localización de muestreo el arroyo Casa de Piedra es de orden ~ 5 , los arroyos los arroyos Goye y López son de orden ~ 3 , mientras que el De la Virgen orden ~ 2 . Para el estudio de los arroyos en el gradiente altitudinal, se seleccionó el ambiente con mayor recorrido, el A° Casa de Piedra, que fue relevado en forma puntual desde fines de la primavera hasta mediados del otoño, en siete puntos establecidos desde su nacimiento en la laguna Jakob hasta su desembocadura en el lago ME. Además, se realizaron relevamientos puntuales en los ingresos de las plumas de los A° Casa de Piedra, De la Virgen al lago ME y del A° López en su ingreso al lago MO (ver detalles en el Capítulo II). Por otra parte, en los muestreos realizados en el gradiente altitudinal del A° Casa de Piedra, se colectaron muestras de suelo y de hojarasca para la extracción de MOD por lixiviación y la posterior evaluación de su transformación por la acción de la microbiota bacteriana y por la exposición a la radiación solar (ver detalles en el Capítulo III).

M.4 MATERIALES Y MÉTODOS GENERALES

M.4.1 Colecta de muestras y mediciones de campo

En cada ocasión de muestreo, se midió en los arroyos una serie de parámetros físico-químicos: La temperatura, el oxígeno disuelto (O₂) y la conductividad del agua se registraron mediante una sonda multiparametro YSI85, mientras que el pH fue medido con una sonda Hanna HI98150. Asimismo, se registró el ancho húmedo (x) y el perfil de profundidades de los arroyos (**Fig. M.4**). El ancho húmedo fue medido con una cinta métrica y el perfil de profundidades fue obtenido a través de mediciones de profundidad cada 0.5 m con una regla milimetrada de metal sobre el mismo eje transversal en el que fue medido el ancho del arroyo. La profundidad media (y) de cada uno de los arroyos fue calculada a partir del perfil de profundidades obtenido. Por último, se obtuvo la velocidad media del agua (V) mediante un flujómetro portátil (Global Water), realizando un barrido a velocidad constante sobre la superficie vertical que corresponde a la sección del arroyo (**Fig. M.4**). El caudal de los arroyos (Q) se calculó utilizando los parámetros anteriores mediante la siguiente ecuación:

$$Q = x * y * V$$

dónde

Q = Caudal del arroyo (m³/sg)

x = Ancho húmedo del arroyo (m)

y = Profundidad media del arroyo (m)

V = Velocidad promedio del agua (m/sg)



Figura M.3. Esquema de los parámetros morfométricos medidos en los arroyos estudiados.

Para el análisis de nutrientes y materia orgánica se tomaron muestras de agua en bidones de policarbonato de 5 litros de capacidad, los cuales fueron previamente lavados con ácido clorhídrico (HCl) al 10% y enjuagadas con suficiente agua ASTM grado 1 (Nanopure, Millipore). Las muestras de agua se obtuvieron a 5 cm de profundidad y fueron inmediatamente conservadas en oscuridad y con aislación térmica hasta su posterior traslado al laboratorio. En cada sitio de muestreo se colectaron tres rocas de forma y tamaño similar con el fin de estimar la producción primaria del epilíton a través de la concentración de clorofila *a*. Las rocas fueron colectadas en la zona central del arroyo, sobre el mismo eje transversal en el que fue medido el ancho del mismo. Las rocas fueron colocadas en bolsas plásticas individuales y transportadas en una conservadora portátil para preservarlas de la luz y mantener la temperatura hasta su procesamiento en el laboratorio.

Los datos meteorológicos del período de estudio (temperatura, precipitación pluvio-nival, etc.) fueron obtenidos mediante un monitor climático (Davis Vantage Pro) localizado en la estación meteorológica EMMA del Laboratorio de Fotobiología (INIBIOMA, CONICET-Universidad Nacional del Comahue; 41° 07' 43.33"S; 71° 25' 12.03"O; 800 m s.n.m.).

M.4.2 Análisis de laboratorio

M.4.2.1 Determinación de nutrientes

Una vez en el laboratorio, se separó un volumen de 500 mL de cada una de las muestras de agua de los arroyos para la determinación de fósforo total (PT) y nitrógeno total (NT). El PT fue determinado por digestión ácida con persulfato de potasio y posterior valoración como PRS en un espectrofotómetro UV-visible Hewlett-Packard 8453 (APHA, 2005). El NT fue determinado por digestión alcalina con solución de persulfato de potasio en hidróxido de sodio 1.5 N, y posterior valoración como nitrato mediante lectura en un espectrofotómetro (Bachmann y Canfield, 1996).

M.4.2.2 Determinación de clorofila *a* en el epilíton

La producción primaria del epilíton (comunidad de organismos adheridos a las rocas) fue estimado a través de la remoción del biofilm de la superficie de las rocas colectadas en los arroyos y la posterior determinación de su contenido de clorofila *a* (cl *a*) (APHA, 2005). Para remover el biofilm se frotó la superficie de la roca con un cepillo de nylon sobre un contenedor de plástico y posteriormente se enjuagó con agua destilada, obteniéndose una muestra de ~100 mL. Esta muestra se homogeneizó por agitación, y luego una alícuota de 1

mL fue separada para la extracción de cl *a* con etanol al 90%. La concentración de cl *a* corregida por feopigmentos fue obtenida mediante espectrofotometría, realizando mediciones de absorbancia del extracto previamente y posteriormente a su tratamiento con ácido clorhídrico 0.1 N (Nusch, 1980).

De cada una de las rocas se obtuvieron tres dimensiones (X, Y, Z) con un calibre (**Fig. M.5**). Con estas dimensiones se calculó la superficie apta para la colonización mediante la siguiente ecuación (APHA, 2005):

$$S = 1,59 + \{ 0,811 * [(X * Y) + (Y * Z) + (X * Z)] \}$$

donde

S = Superficie epilítica (m²)

X = Ancho máximo de la roca (m)

Y = Largo máximo de la roca (m)

Z = Altura máxima de la roca (m)

Posteriormente la concentración de cl *a* determinada en los extractos, fue referida a la superficie epilítica de la roca (mg/m²), calculándose el valor promedio a partir de las mediciones realizadas en las tres rocas colectadas en cada sitio.

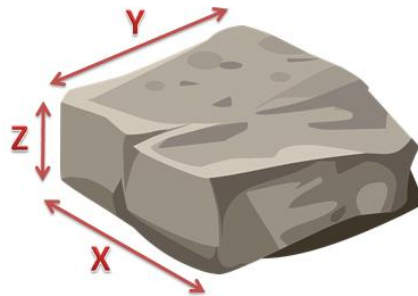


Figura M.5. Esquema de las mediciones realizadas sobre las rocas.

M.4.2.3 Sólidos totales en suspensión

Los sólidos totales en suspensión (STS) fueron determinados filtrando un volumen de 3 L de agua de los arroyos a través de filtros de fibra de vidrio (Munktell MF/F) pre-muflados (mufla, 500 °C) y pre-pesados en balanza analítica. Posteriormente, los filtros se secaron en estufa a 60 °C por 48 h y se pesaron nuevamente para obtener el peso asociado a las partículas en suspensión (peso final del filtro menos el peso inicial del filtro) (APHA, 2005). La concentración de STS fue calculada como:

$$STS = \frac{\text{Peso final filtro (g)} - \text{Peso inicial filtro (g)}}{\text{Volúmen de agua filtrado (L)}}$$

M.4.3 Caracterización de la materia orgánica disuelta (MOD)

Para el análisis de la MOD, a través de la determinación de la concentración del carbono orgánico disuelto (COD) y de la caracterización óptica de la MOD cromofórica (MODC) y fluorescente (MODF), se filtró un volumen de 500 mL de muestra de agua a través de filtros de membrana PVDF (Millipore) de 0.22 µm de abertura de poro. Las muestras filtradas se colocaron inmediatamente en frascos de vidrio oscuros a 5 °C hasta su análisis dentro de las 4-8 horas posteriores a la colecta de las muestras.

M.4.3.1 Concentración de carbono orgánico disuelto (COD) y carbono inorgánico disuelto (CID)

La concentración de COD en las muestras fue determinada como carbono orgánico no-purgable, utilizando un analizador de carbono Shimadzu TOC-L (Shimadzu Corporation) con un catalizador de alta sensibilidad con un límite de detección de 4 µg/L. Adicionalmente para los experimentos de laboratorio (Capítulo III), se midió la concentración del CID con el mismo analizador Shimadzu TOC-L. Las concentraciones de COD y CID son la resultante de 3 a 5 inyecciones de 400 µL, con un coeficiente de variación (CV) menor al 2%.

M.4.3.2 Caracterización de la MOD cromofórica (MODC)

Para la caracterización de la MODC, las muestras previamente filtradas por PVDF y estabilizadas a una temperatura ~18 °C en un baño térmico, se colocaron secuencialmente en una cubeta de cuarzo de 10 cm de longitud y se escanearon en un espectrofotómetro UV-visible (Hewlett-Packard 8453), obteniéndose espectros de absorción entre los 200 a 800 nm, a intervalos de 1 nm. Se utilizó como blanco de referencia agua ASTM grado 1 (Nanopure, Millipore) filtrada por PVDF y estabilizada a 18 °C. La estabilización térmica del blanco y de las muestras permite evitar anomalías espectrales, especialmente entre los 650-800 nm, debidas a las diferencias de temperatura (Mitchell et al., 2002). El promedio de las absorbancias entre 700 y 800 nm fue sustraído de cada espectro para corregir por la línea de base del instrumento (Green y Blough, 1994; Helms et al., 2008). Todas las medidas de absorbancia fueron convertidas a coeficientes de absorción según la siguiente fórmula:

$$a = 2.303 A/l$$

dónde

a = coeficiente de absorción Neperiano (m^{-1})

A = absorbancia

l = longitud del paso óptico (m)

Los coeficientes de absorción a determinadas longitudes de onda fueron utilizados como indicadores de la composición y origen de la MODC y se encuentran resumidos en la **Tabla M.1**. El coeficiente de absorción a 254 nm (a_{254}) fue utilizado como descriptora de la aromaticidad de la MODC (Green y Blough, 1994), debido a que los dobles enlaces conjugados (dobles enlaces adyacentes) de las moléculas aromáticas tienen la mayor absorptividad a esa longitud de onda, mientras que otras estructuras electrónicas no absorben en esta porción del UV (Weishaar et al., 2003). El coeficiente de absorción a 350 nm (a_{350}) fue aplicado para analizar las señales terrestres en la MODC debido a su relación con la concentración lignina (Hernes y Benner, 2003; Spencer et al., 2008; Walker et al., 2013). El color del agua fue estimado mediante el coeficiente de absorción a 440 nm (a_{440}), también relacionado con la MODC alóctona (Reche et al., 1999). La normalización del a_{254} por la concentración de COD (a_{254}/COD), parámetro conocido como $SUVA_{254}$, permite la comparación de la aromaticidad independientemente de la concentración de COD (Aiken, 2014) y se utilizó para comparar la aromaticidad en los experimentos de laboratorio. Los coeficientes de absorción a_{350} y a_{440} también se normalizaron por la concentración de COD (a_{350}/COD ; a_{440}/COD) en los experimentos de laboratorio. El coeficiente a_{350} normalizado por la concentración de COD fue utilizado para comparar los datos obtenidos de los cuatro arroyos estudiados en el Capítulo I, con datos de otros ambientes provenientes de la literatura (Fichot y Benner, 2012; Aiken, 2014).

A partir de los coeficientes de absorción, se puede calcular una pendiente espectral (S) en el rango de longitudes de onda deseado (**Fig. M.6**). Debido a su independencia de la concentración de la MOD, las pendientes espectrales son otra herramienta que se aplica usualmente para caracterizar la materia orgánica. En este estudio se calcularon las pendientes espectrales para los intervalos 275-295 nm ($S_{275-295}$) y 350-400 nm ($S_{350-400}$) mediante el ajuste a un modelo lineal de los datos de absorbancia transformados logarítmicamente. Las pendientes resultantes fueron expresadas en números positivos según una convención matemática. La pendiente $S_{275-295}$ fue utilizada como indicador del tamaño molecular relativo y origen de la MODC (Stedmon et al., 2011a; Fichot y Benner, 2012). La pendiente $S_{350-400}$

fue calculada para hacer el cociente de las pendientes (S_R) como la división entre $S_{275-295}$ y $S_{350-400}$, el cual se utiliza como indicador del tamaño molecular relativo de la MODC (Helms et al., 2008).

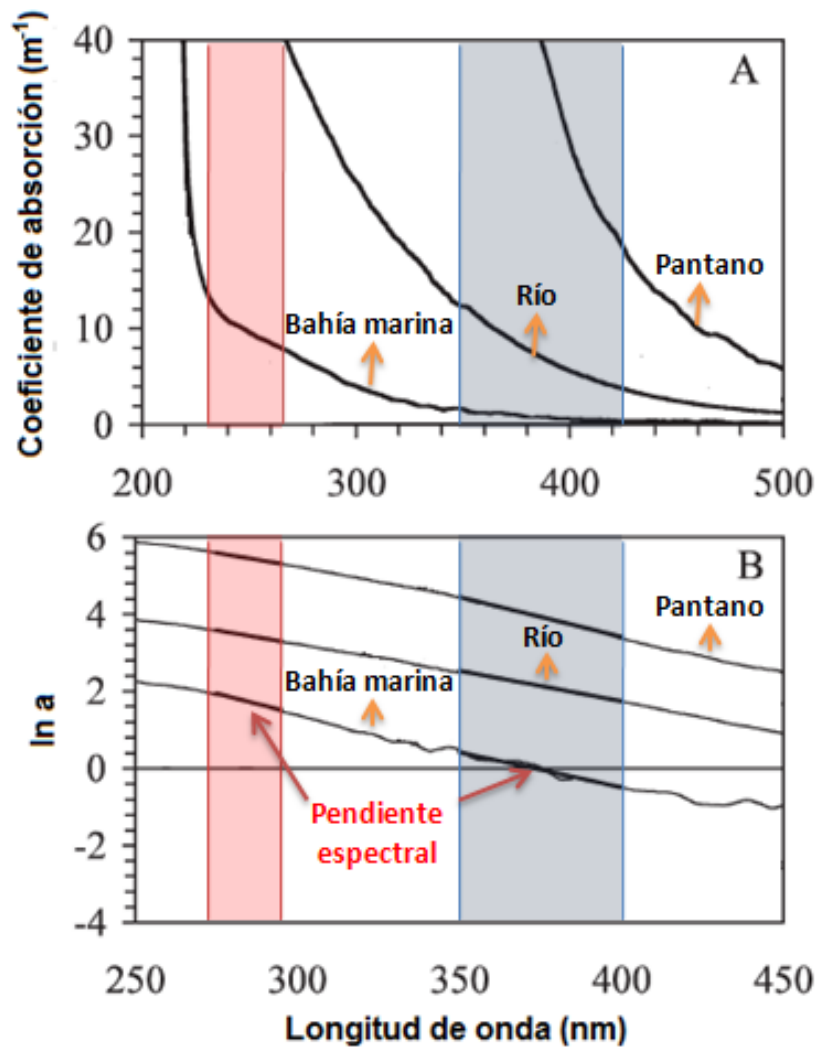


Figura M.6. A) Espectros de absorción de tres ambientes diferentes. B) Transformación logarítmica de los mismos espectros de absorción. La pendiente espectral representa la pendiente del ajuste lineal en las regiones marcadas. En rojo, la región 275-295 nm y en azul, 350-400 nm (Modificado de Helms et al., 2008).

Tabla M.1. Índices espectrofotométricos utilizados para la caracterización de la MODC. Referencias: a_{254} : coeficiente de absorción a 254 nm; a_{350} : coeficiente de absorción a 350 nm; a_{440} : coeficiente de absorción a 440 nm; a_{350} :COD: coeficiente de absorción a 350 nm normalizado por la concentración de COD; $S_{275-295}$: pendiente espectral para el intervalo entre 275 y 295 nm; S_R : cociente de las pendientes espectrales $S_{275-295}$ y $S_{350-400}$.

Índice	Referencia	Significado/Interpretación
a_{254}	Green y Blough, 1994	Estimador de la aromaticidad de la MODC. <i>A mayor índice, mayor aromaticidad.</i>
a_{350}	Hernes y Benner, 2003; Spencer et al., 2008	Indicador de concentración de MODC alóctona, estimador del contenido de lignina. <i>A mayor índice, mayor contenido de lignina.</i>
a_{440}	Reche et al., 1999	Indicador de concentración de MODC alóctona, estimador del color del agua. <i>A mayor índice, mayor coloración del agua.</i>
a_{254} :COD	Aiken, 2014	Estimador de la aromaticidad de la MODC. (Independizado de la concentración de COD). <i>A mayor índice, mayor aromaticidad.</i>
a_{350} :COD	Fichot y Benner, 2012	Indicador de concentración de MODC alóctona, estimador del contenido de lignina (Independizado de la concentración de COD). <i>A mayor índice, mayor contenido de lignina.</i>
a_{440} :COD	-	Indicador de concentración de MODC alóctona, estimador del color del agua. (Independizado de la concentración de COD). <i>A mayor índice, mayor coloración del agua.</i>
$S_{275-295}$	Stedmon et al., 2011a; Fichot y Benner, 2012	Indicador del peso molecular y del origen de la MODC. <i>A mayor índice, menor tamaño molecular relativo y origen más autóctono.</i>
S_R	Helms et al., 2008	Indicador del peso molecular y del origen de la MODC. <i>A mayor índice, menor tamaño molecular relativo y origen más autóctono.</i>

M.4.3.3 Caracterización de la MOD fluorescente (MODF) y fundamentos metodológicos

Las mediciones espectrofluorométricas de las muestras filtradas por filtro de membrana PVDF 0.22 μm fueron realizadas utilizando una cubeta de cuarzo de 1 cm en un espectrofluorómetro Perkin-Elmer LS55, equipado con una lámpara de Xenón de 150-W. Las muestras de agua se mantuvieron a una temperatura constante de 20 °C, controlada por un termostatizador Peltier. Todos los datos de fluorescencia fueron expresados en unidades Raman (RU, por sus siglas en inglés). Se realizaron tres tipos de mediciones para la caracterización de la MODF: Matrices de fluorescencia, espectros de emisión y espectros sincrónicos de fluorescencia.

Matrices de Fluorescencia

Las matrices de excitación-emisión (EEMs, por sus siglas en inglés) revelan la fluorescencia de la MOD como superficies topográficas de la luz emitida en función de la longitud de onda de la excitación (matrices tridimensionales de excitación-emisión), captando la excitación y la emisión de las sustancias fluorescentes que varían con la composición de la MOD (Coble, 1996; Stedmon y Bro, 2008; Aiken, 2014). Estas matrices se construyen a partir de un escaneo de la fluorescencia de la muestra y de la medición de espectros de emisión múltiples colectados a diferentes longitudes de excitación. De esta manera, se genera un mapa con máximos de fluorescencia de diferentes intensidades localizados en diversas coordenadas de excitación-emisión (Ex/Em). La superficie tridimensional de datos (la intensidad de emisión como una función de la excitación y emisión de longitudes de onda) se representa en un mapa de contorno (**Fig. M.7**). Los máximos que se observan indican la presencia de una determinada de sustancia fluorescente (fluoróforo) (Teymuri, 2007), pudiendo ser utilizados para identificar el origen y la composición de la MODF (**Fig. M.8; Tabla M.2**).

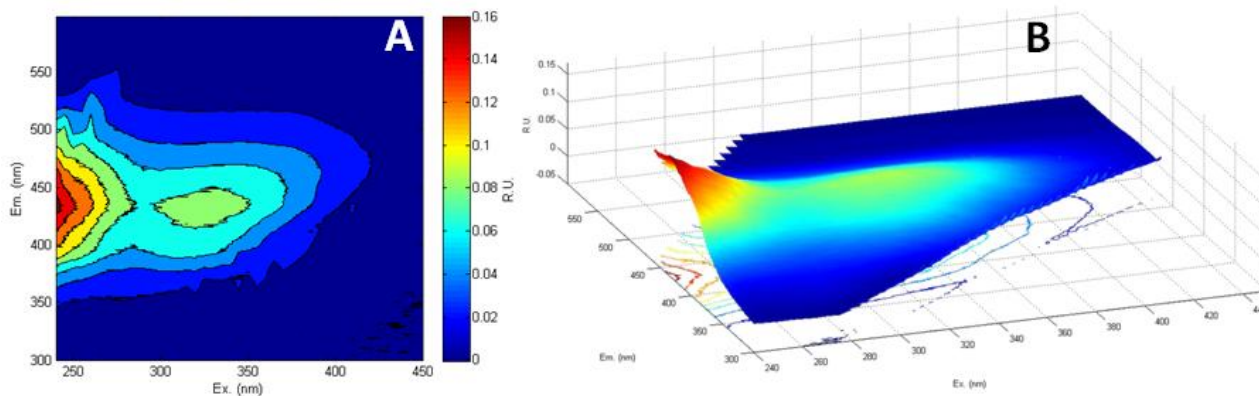


Figura M.7. Representación gráfica de una matriz de excitación-emisión (EEM). A) En un plano; B) Tridimensional.

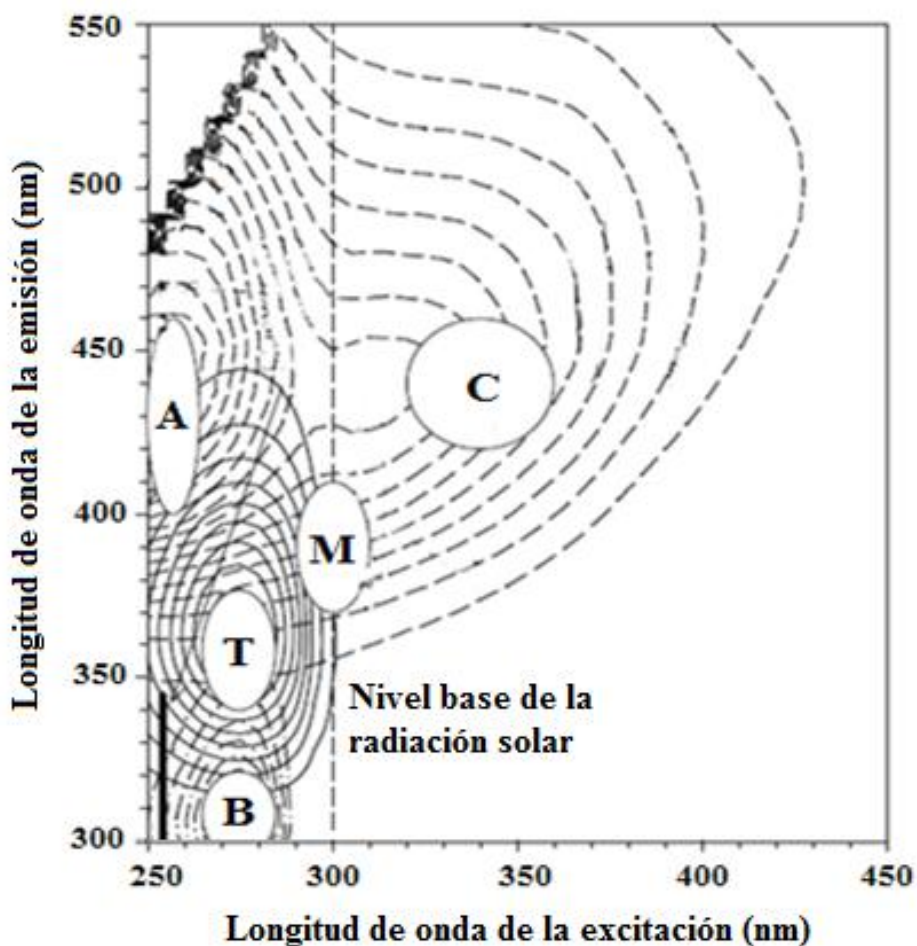


Figura M.8. Esquema de una matriz de excitación-emisión (EEM). En cada óvalo se pueden observar los máximos de fluorescencia (fluoróforos) descritos por Coble (1996, 2007) (Modificado de Birwell y Engel, 2010).

Tabla M.2. Ubicación y características de los principales fluoróforos identificados en diversos estudios de la MODF.

Fluoróforo Ubicación	Descripción y posible origen	Trabajos de referencia
A Ex _{Máx} 260 Em _{Máx} 380-460	Sustancias terrestres de tipo húmicas; derivadas de plantas vasculares.	Coble, 1996; 2007; Yamashita et al., 2010
B Ex _{Máx} 275 Em _{Máx} 310	Sustancias de tipo proteicas, con fluorescencia similar a la tirosina; derivadas de procesos autóctonos.	Coble, 1996; 2007; Yamashita et al., 2010
C Ex _{Máx} 350 Em _{Máx} 420-480	Sustancias terrestres de tipo húmicas; derivadas de plantas vasculares.	Coble, 1996; 2007; Yamashita et al., 2010
D Ex _{Máx} 390 Em _{Máx} 510	Sustancias terrestres de tipo fúlvicas; derivadas del suelo.	Stedmon et al., 2003; Aiken, 2014
E Ex _{Máx} 455 Em _{Máx} 520	Sustancias terrestres de tipo fúlvicas; derivadas del suelo.	Stedmon et al., 2003; Aiken, 2014
M Ex _{Máx} 310 Em _{Máx} 380-420	Sustancias terrestres de tipo húmicas; de origen microbiano y/o biológico.	Coble, 1996; 2007; Yamashita et al., 2010
N Ex _{Máx} 280 Em _{Máx} 370	Sustancias de origen acuático; derivadas de plancton.	Stedmon et al., 2003; Aiken, 2014
T Ex _{Máx} 275 Em _{Máx} 340	Sustancias de tipo proteicas con fluorescencia similar al triptófano; derivadas de procesos autóctonos.	Coble, 1996; 2007; Aiken, 2014

En este estudio se utilizaron tres configuraciones diferentes de matrices para la caracterización de la MOD. Durante un primer período del estudio las EEMs fueron obtenidas según el método de Wong y Williams (2009), en un rango de longitud de excitación entre 210-420 nm a intervalos de 10 nm, y en un rango de emisión de 300-550 nm a intervalos de

0.5 nm, con una velocidad de escaneo de 1200 nm/min, en base a 22 escaneos por matriz. En un segundo período de estudio las EEMs se obtuvieron según el método de He et al. (2011), en un rango de longitud de excitación de 300-540 nm a intervalos de 5 nm y con un rango de emisión entre 200-438.5 nm a intervalos de 0.5 nm a una velocidad de escaneo de 1500 nm/min y 49 escaneos por matriz. Por último, se obtuvieron EEMs según un método modificado a partir de Murphy et al. (2010), en un rango de longitud de excitación de 240-450 nm a intervalos de 5 nm y un rango de emisión entre 300-600 nm a intervalos de 0.5 nm, a una velocidad de escaneo de 1500 nm/min y 43 escaneos por matriz. Cabe resaltar que la aplicación de los diferentes métodos (o configuraciones) no influye sobre los resultados obtenidos, sino sobre la resolución que se obtiene de la matriz tridimensional de datos.

Las EEMs fueron procesadas utilizando el software FL–WinLab® (Perkin-Elmer). Los espectros de absorbancia medidos concurrentemente en espectrofotómetro fueron utilizados para realizar la corrección de cada una de las matrices por el efecto de filtro interno (“*inner filter effect*”, en inglés). Dicha corrección fue realizada mediante la utilización del paquete de herramientas FDOMcorr del programa MATLAB® (Murphy et al., 2010). Además, las matrices se corrigieron por valores instrumentales indicados por el fabricante, realizándose también la sustracción del blanco (matriz de agua ASTM1, MilliQ). Los datos fueron normalizados por el área delimitada por el espectro Raman medido sobre una muestra de agua ASTM1 a una excitación de 350 nm con la utilización del FDOMcorr (Murphy et al., 2010), y los resultados se expresaron en unidades Raman (RU, por sus siglas en inglés).

La información brindada por las EEMs fue analizada mediante la aplicación de un método estadístico multivariado denominado Análisis de Factores Paralelos (PARAFAC, por sus siglas en inglés) que se detalla más adelante.

Espectros de emisión

Estos espectros resultan de la medición de la fluorescencia emitida por una muestra de agua en un rango determinado de longitudes al ser excitada a una longitud de onda conocida. Se utiliza como indicador de la composición de la MODF. Para este trabajo, se utilizaron tres emisiones diferentes (**Fig. M.9**):

- **Emisión 254:** Se excita la muestra a 254 nm y se mide la emisión entre 295-490 nm.
- **Emisión 310:** Se excita la muestra a 310 nm y se mide la emisión entre 375-435 nm.
- **Emisión 370:** Se excita la muestra a 370 nm y se mide la emisión entre 400-700 nm.

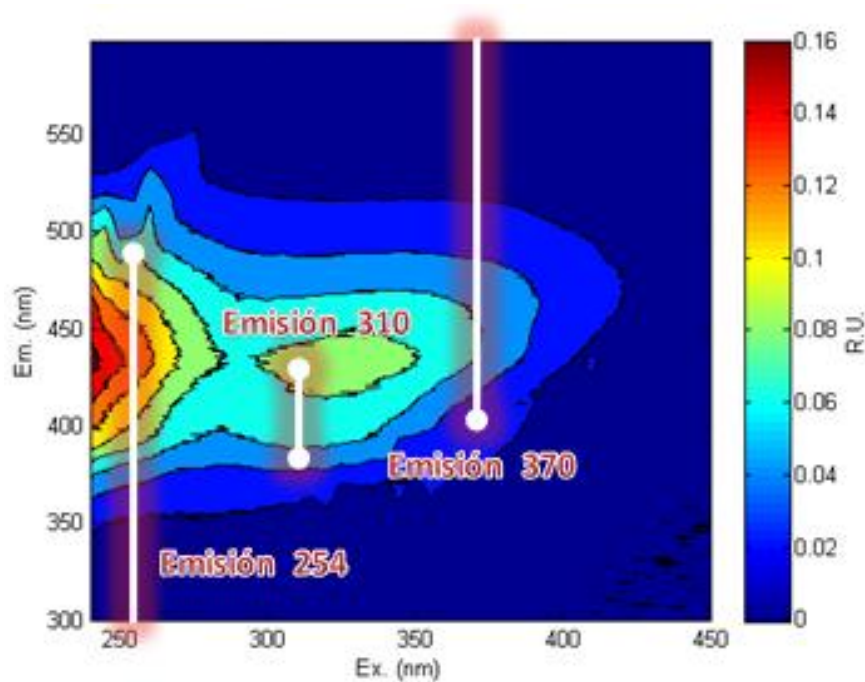


Figura M.9. Ubicación de los cuatro espectros de emisión utilizados en este estudio en el contexto de una matriz de excitación-emisión (EEM). Em: Longitud de onda de la emisión; Ex: Longitud de onda de la excitación.

A partir de los espectros de emisión se calcularon distintos índices para caracterizar la MODF (**Tabla M.3**). La emisión 254 fue utilizada para calcular el grado de humificación de la MODF, **HIX** (IF_{254}). El **HIX** fue calculado como la suma de las intensidades de emisión entre 435 y 480 nm, dividido la suma de las intensidades de la emisión entre 300 y 345 nm, a una longitud de onda de excitación de la muestra de 254 nm (emisión 254). Este índice toma valores de 0 a 1, incrementándose con el grado de humificación de la MODF (Ohno, 2002; Huguet et al., 2009).

La emisión 310 fue utilizada para estimar la contribución relativa de la MODF recientemente producida (por microorganismos o producción autóctona), denominado índice **BIX** o $\beta:\alpha$ (IF_{310}). Se midió como el cociente entre la intensidad de emisión a 380 nm y la intensidad máxima entre las emisiones 420-435 nm (Parlanti et al., 2000; Wilson y Xenopoulos, 2009; Fleck et al., 2014). En este caso, los valores de $BIX > 0.8$, indican que la MODF posee un fuerte componente de productos recientemente producidos, mientras que valores de $BIX < 0.6$ son indicativos de MODF con baja presencia de estos productos (Birwell y Engel, 2010; Walker et al., 2013).

La emisión 370 fue utilizada para calcular el índice **FI** (IF_{370}), índice utilizado como un estimador del origen de la MODF. El FI fue medido como el cociente entre la intensidad

de la fluorescencia emitida a 450 nm y la intensidad de la fluorescencia emitida a 500 nm, con una excitación de la muestra a 370 nm (emisión 370). Los valores de FI cercanos a 1.4 son indicativos de MODF derivada de plantas terrestres y/o MO proveniente del suelo (alóctono), mientras que valores cercanos a 1.9 indican MODF derivada de exudados celulares y/o lixiviados de bacterias o algas (autóctono) (McKnight et al., 2001; Cory et al., 2010).

Tabla M.3. Índices espectrofluorométricos utilizados para la caracterización de la MODF. Referencias: HIX (IF₂₅₄): índice de humificación; BIX o $\beta:\alpha$ (IF₃₁₀): índice de producción microbiana reciente; FI (IF₃₇₀): índice de fluorescencia.

Índice	Referencia bibliográfica	Significado Interpretación
HIX (IF ₂₅₄)	Ohno, 2002	Indicador del estado de humificación de la MODF. <i>Varía entre 0-1, incrementándose a medida que aumenta el grado de humificación.</i>
BIX o $\beta:\alpha$ (IF ₃₁₀)	Huguet et al., 2009	Indicador de la MODF recientemente producida (de origen biológico o microbiano). <i>Valores >0.8 corresponden a MODF de reciente producción. Valores <0.6 son indicativos de MODF derivada de una fuente alóctona.</i>
FI (IF ₃₇₀)	McKnight et al., 2001; Cory et al., 2010	Indicador del origen de la MODF. <i>Valores ~1.9 indican origen autóctono de la MODF, mientras que valores ~1.4 indican origen alóctono.</i>

Espectros sincrónicos de fluorescencia

Los espectros sincrónicos de fluorescencia (Peuravuori et al., 2002), se obtuvieron con un rango de longitud de onda de excitación de 250-550 nm y una diferencia de longitud de onda entre la excitación y emisión determinada como $\Delta\lambda$ ($\lambda_{em} - \lambda_{ex}$). Esto es, emisiones medidas en un desplazamiento constante ($\Delta\lambda$) con respecto a la longitud de onda de excitación. Para los espectros sincrónicos se utilizó un ancho de banda de 10 nm (Lu et al., 2003). En este estudio se utilizó un $\Delta\lambda = 80$ nm (eso es que si se excita a 250 nm, se mide la emisión a 330 nm; si se excita a 260 nm se mide la emisión a 340 nm, y así sucesivamente con todo el rango de longitud de onda de excitación). Se realizó la lectura de un blanco de

agua ASTM1 (MilliQ), que luego se sustrajo del espectro sincrónico de cada muestra de agua. Estos espectros sincrónicos corresponden a un corte diagonal de las matrices de fluorescencia como se muestra en la **Figura M.10** y permiten detectar cambios en las intensidades de fluorescencia en los diferentes fluoróforos que atraviesa el espectro sincrónico (**Fig. M.11**).

Los espectros sincrónicos fueron analizados con el software FL–WinLab® (Perkin-Elmer) y se corrigieron por la superposición con el espectro Raman y por el efecto de filtro interno, utilizando la absorbancia UV-visible del agua natural (Ferrari y Mingazzini, 1995). En cada muestra de agua se identificaron los máximos principales comparándose sus magnitudes siguiendo la metodología propuesta por Jaffé et al. (2004) y Breton et al. (2009). Se han citado cuatro máximos que pueden ser asignados de acuerdo a su rango de excitación máxima como: 1- máximo de emisión a una excitación ~270-300 nm correspondiente a la presencia de sustancias orgánicas de bajo peso molecular (autóctonas); 2- máximo de emisión a una excitación ~310-370 nm, indicador de compuestos aromáticos; 3- máximo de emisión a una excitación ~370-400 nm indicador de ácidos fúlvicos y, 4- máximo de emisión a una excitación >460 nm, indicador de ácidos húmicos (**Fig. M.11**).

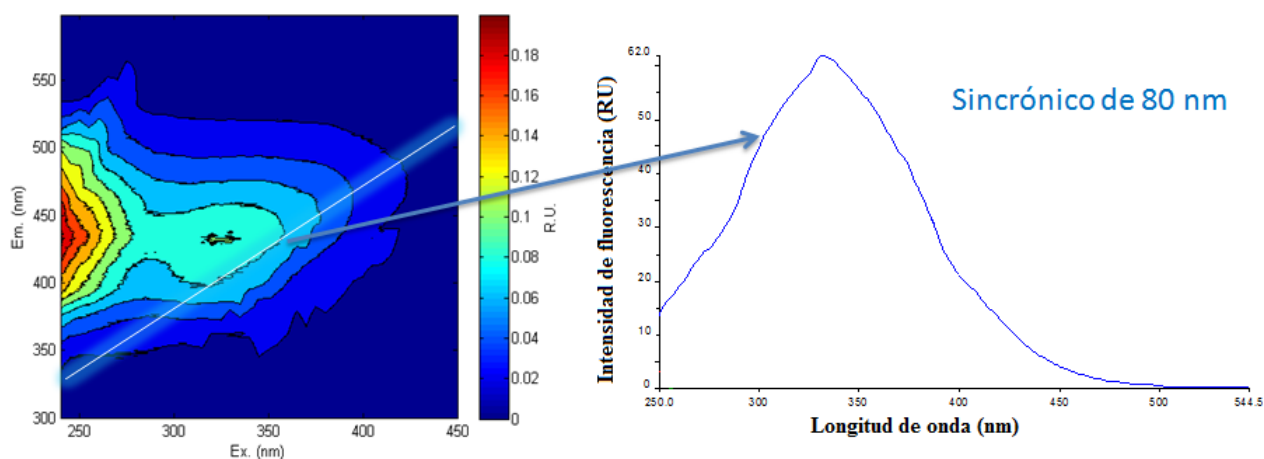


Figura M.10. Representación de un espectro sincrónico de fluorescencia y su ubicación en una matriz de excitación-emisión (EEM).

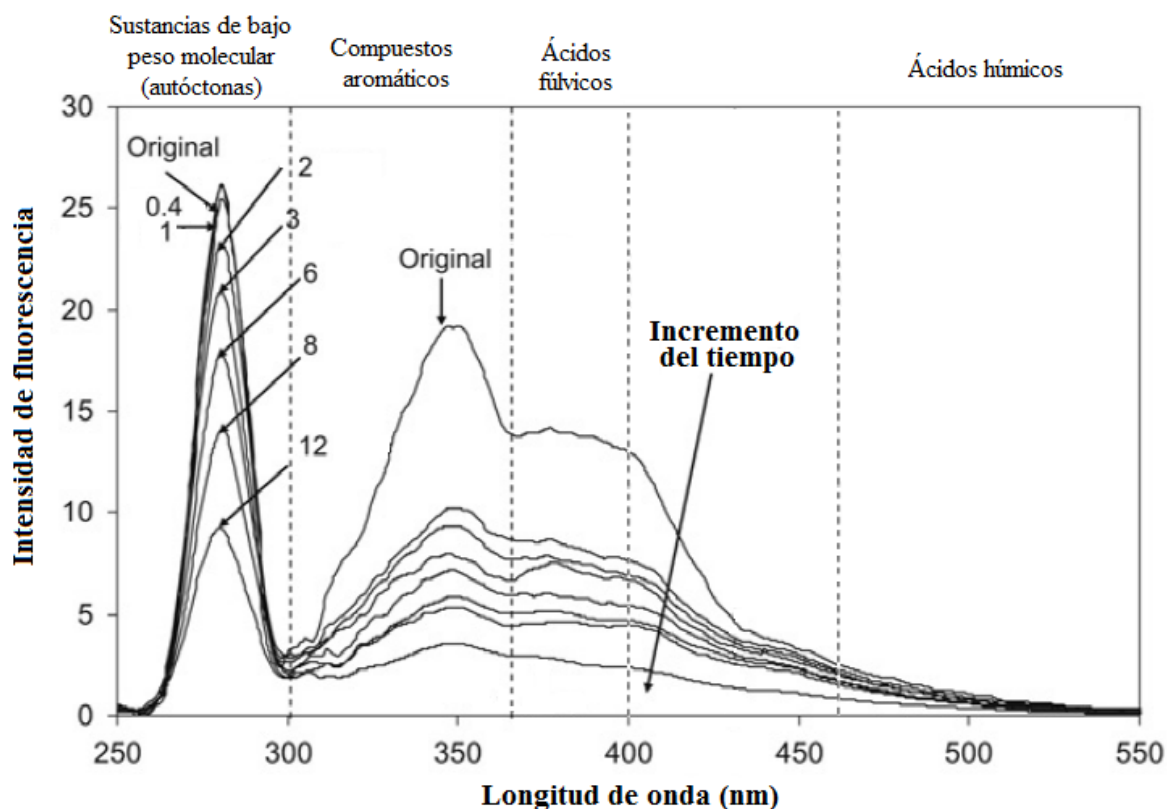


Figura M.11. Cambios en el tiempo de los espectros sincrónicos de fluorescencia ($\Delta\lambda = 30$ nm) de la MOD expuesta a procesos degradativos. Los números indican días de exposición a la degradación. Las líneas punteadas delimitan rangos asignados a distintas sustancias (Modificado de Hur et al., 2011).

M.4.3.4 Modelado con PARAFAC

Se utilizó el método estadístico multivariado PARAFAC (análisis de factores paralelos) para analizar la información obtenida a través de las EEMs. El modelado con PARAFAC consiste en una descomposición trilinear de componentes de fluorescencia independientes (Stedmon et al., 2003; Murphy et al., 2013) (**Fig. M.12**). Cada uno de estos componentes se encuentra relacionado con uno o más fluoróforos (Coble, 1996, 2007; Stedmon et al., 2003; Yamashita et al., 2010; Aiken, 2014) (**Tabla M.2**).

Para el modelado, las EEMs fueron corregidas por el efecto Raman y la dispersión Rayleigh (efectos ópticos generados por la dispersión de la luz en el agua) (Stedmon y Bro, 2008; Murphy et al., 2010) utilizando la herramienta FDOMcorr del programa MATLAB®R2014a, (The Natick, Estados Unidos). El análisis PARAFAC se ejecutó usando la barra de herramientas DOMFluor del software MATLAB, según Stedmon y Bro (2008). Se realizó un análisis PARAFAC para cada método por separado utilizándose 81 EEMs para el

PARAFAC aplicado a las matrices obtenidas mediante el método He et al. (2011), y 131 EEMs para el PARAFAC aplicado a las matrices obtenidas con el método Murphy et al. (2010) modificado. No se aplicó análisis PARAFAC a las matrices obtenidas mediante el método de Wong y Williams (2009) debido al bajo número de EEMs medidas. Se aplicó un tercer análisis PARAFAC a las 79 matrices obtenidas en los experimentos (Capítulo III). Estas matrices obtenidas con el método de Murphy et al. (2010) modificado, fueron analizadas con un PARAFAC independiente debido a que los experimentos se realizaron *a posteriori*.

Para cada análisis PARAFAC se realizó una exploración visual de todas las EEMs. Para este análisis exploratorio se utilizaron contrastes no negativos para identificar valores atípicos (“*outliers*”, en inglés), eliminándose del set de datos las EEMs con errores debidos al instrumento o bien debido a diferencias pronunciadas de las muestras en el contexto general, determinados mediante el cálculo de los pesos (*leverage*) > 0.5 , utilizando la herramienta DOMfluor. El número de componentes del modelo fue validado mediante el análisis “*split-half*”, que genera una comparación entre las EEMs y la representación del modelo (Stedmon et al., 2003; Cory y McKnight, 2005; Stedmon y Bro, 2008). El modelo con mejor ajuste fue obtenido realizando 10 inicializaciones al azar y comparaciones mediante el coeficiente de congruencia de Tucker para todos los “*split-half*”. Por último, se obtuvo la intensidad máxima (F_{\max}) de todas las matrices para cada uno de los componentes (Stedmon y Bro, 2008).

Los componentes modelados mediante PARAFAC se contrastaron con componentes incluidos en la base de datos de acceso abierto OpenFluor (www.openfluor.org; Murphy et al., 2014), para identificar la presencia de los componentes hallados en este estudio con componentes obtenidos en otros estudios. Se consideraron componentes equivalentes a aquellos componentes que presentaron una similitud mínima del 95%.

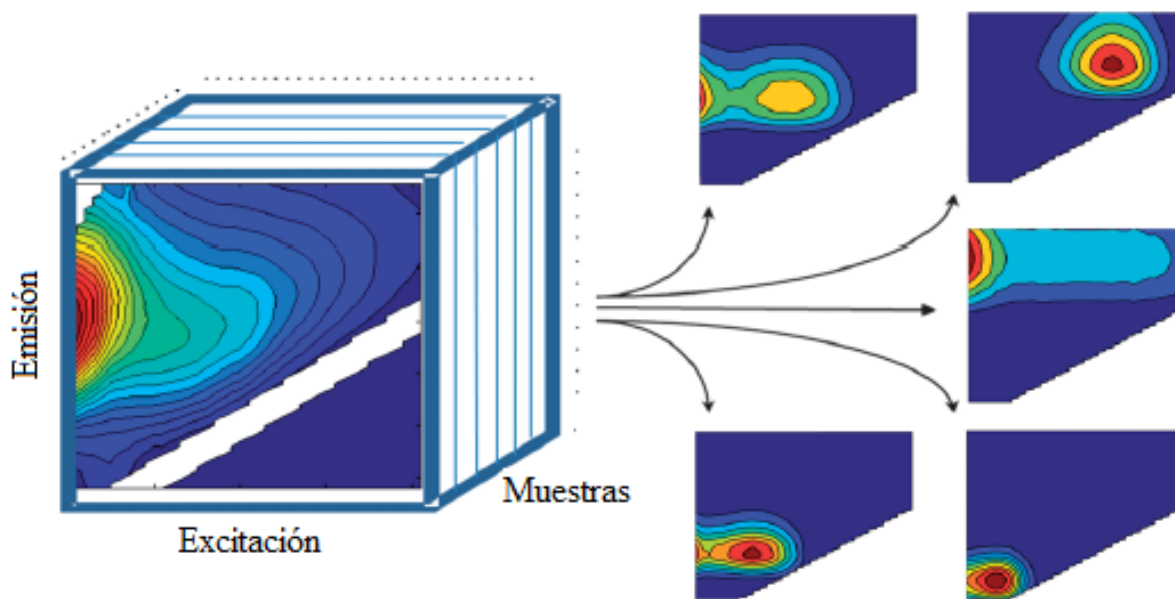


Figura M.12. Esquema de las matrices de excitación-emisión (EEMs) descompuestas en cinco componentes mediante PARAFAC (Modificado de Murphy et al., 2013).

M.4.4 Estimación de la concentración de MOD no cromofórica y no fluorescente

La relación entre la concentración del COD y el a_{350} se ajustó a un modelo lineal simple el cual fue utilizado para estimar el porcentaje de COD no cromofórico (MODnC) (Vodacek et al., 1997; Ferrari, 2000; Rochelle-Newall y Fisher, 2002; Spencer et al., 2008). La intersección positiva de la relación a_{350} -COD en el eje de las X ($X=COD$ e $Y=a_{350}$), indica la fracción no cromofórica de la MOD. Para cada arroyo se calculó el porcentaje de MODnC utilizando la concentración media general de COD.

La relación entre la concentración de COD y la intensidad de fluorescencia máxima entre 430-450 nm a una excitación a 370 nm (Emisión 370) se ajustó también a un modelo lineal simple que fue aplicado para estimar el porcentaje de MOD no fluorescente (MODnF) excluida de los análisis espectrofluorométricos (Vodacek et al., 1997; Ferrari, 2000; Spencer et al., 2008). Los valores de intensidad de fluorescencia fueron expresados como unidades arbitrarias (UA). La intersección positiva de la relación entre estas dos variables en el eje de las X, siendo $X=COD$ e $Y=$ intensidad máxima de la Em_{370} , resulta un estimador de la fracción no fluorescente de la MOD (Vodacek et al., 1997; Ferrari, 2000; Rochelle-Newall y Fisher, 2002; Spencer et al., 2008). Para cada arroyo se calculó el porcentaje de MODnF para la concentración media de COD.

La relación entre MODC y MODF se ajustó a un modelo lineal simple. Esta relación fue utilizada para estimar el grado de acople de estas dos fracciones de la MOD en los arroyos estudiados (Vodacek et al., 1997; Ferrari, 2000; Spencer et al., 2008).

M.4.5 Análisis de datos

La distribución y la homocedasticidad de los datos fueron testeadas previamente a los análisis estadísticos. En todos los test utilizados se estipuló un nivel de significancia del 5% ($\alpha = 0.05$). Se aplicó análisis de correlación (Pearson) para estudiar la relación entre los parámetros químicos en el gradiente ambiental y temporal. Se utilizó estadística descriptiva para presentar los valores de absorbancia y fluorescencia de la MOD. La relación entre indicadores ópticos y la concentración de COD fue ajustada mediante modelos lineales simples. Los datos provenientes de los estudios de campo presentados en los Capítulos I y II se analizaron mediante métodos estadísticos multivariados, aplicándose análisis de componentes principales (PCA) y análisis de redundancia (RDA), respectivamente. Los resultados de los experimentos de laboratorio (Capítulo III) se estudiaron mediante análisis de la variancia de dos vías (ANOVA de 2 vías), aplicándose comparaciones *a posteriori* en los casos en que fue posible. La metodología analítica utilizada en los estudios incluidos en esta tesis se detalla en cada capítulo.

Capítulo I

TRANSPORTE DE MATERIALES EN LOS ARROYOS QUE DRENAN LA CUENCA DEL COMPLEJO LACUSTRE MORENO



I.1 INTRODUCCIÓN

Las aguas continentales son agentes que actúan como nexo en los ciclos biogeoquímicos conectando los sistemas terrestres, la atmósfera y los océanos (Aufdenkampe et al., 2011). Los ciclos del carbono y otros elementos se encuentran asociados a procesos erosionales (químicos y físicos) y deposicionales en la cuenca, y al lixiviado y a la respiración de los suelos (Wetzel, 2001; Allan y Castillo, 2007). En el caso del carbono, una fracción considerable de la producción primaria de los ambientes terrestres es transportada lateralmente como materia orgánica disuelta (MOD) a través de las redes fluviales contribuyendo al ciclo global de este elemento (Battin et al., 2009; Goodman et al., 2011; Stets y Striegl, 2013; Fasching et al., 2014; Creed et al., 2015). El transporte de materiales en los ríos y hacia la red fluvial ha sido cuantificado en inventarios globales, sin embargo los procesos que transforman esos materiales durante la travesía son poco conocidos aunque relevantes a nivel global. El ingreso de MOD terrestre en los ecosistemas acuáticos está determinado por factores naturales como el clima y el paisaje (p.e., la cobertura vegetal de la cuenca), y también por la actividad humana (p.e., uso de la tierra) (Agren et al., 2008; Laudon et al., 2011; McElmurry et al., 2013; Mann et al., 2014). Debido a esto, resulta necesario conocer y comprender los factores que controlan la concentración, composición y dinámica de la MOD transportada en los ríos a escala local y regional para predecir sus cambios en respuesta a la intensificación de las fluctuaciones en el clima, el uso de la tierra y/o a los cambios de la cobertura vegetal en las cuencas (Mengistu et al., 2013; Creed et al., 2015).

En algunas regiones del hemisferio norte, incluyendo vastas zonas de Norteamérica, el norte y centro de Europa, y el sudeste de Asia, el flujo de MOD terrestre hacia las redes fluviales se encuentra en aumento debido al impacto del cambio climático global y de las actividades humanas en los ambientes naturales (Fasching et al., 2014). El subsidio de MOD terrestre tiene un rol importante en el flujo global del carbono, influenciando en general la biogeoquímica y la ecología de las aguas superficiales (Cole et al., 2007; Nilsson et al., 2008; Aiken et al., 2011). Además, la MOD determina en gran medida aspectos físico-químicos (p.e., clima óptico subacuático, pH, conductividad) y tróficos (producción autotrófica y heterotrófica) de los sistemas acuáticos (Jansson et al., 2007; Jaffé et al., 2008; Fasching et al., 2014). También ejerce control sobre la química ácido-base de los suelos y de las aguas superficiales (Hruška et al., 2003) e influencia la especiación y exportación de metales (Ravichandran, 2004; Aiken, 2014).

La MOD está compuesta por diferentes sustancias orgánicas con reactividades y funciones ecológicas particulares (Jaffé et al., 2008). La caracterización de la MOD incluye la determinación directa o indirecta del peso molecular, aromaticidad, propiedades ópticas, composición elemental y proporción de sustancias húmicas (Hessen y Tranvik, 1998; Helms et al., 2008; Ishii y Boyer, 2012). Las propiedades de la MOD son diversas, dependiendo de la fuente y de su estado diagenético (Benner, 2003). Dado que la concentración y la calidad de la MOD están controladas por una variedad de procesos biológicos (producción primaria y descomposición), químicos (foto-degradación y reacciones redox) y físicos (hidrología) (McKnight et al., 2001; Findlay y Sinsabaugh, 2003; Jaffé et al., 2008; Fellman et al., 2009; Spencer et al., 2009; Wilson et al., 2013), el monitoreo de su dinámica provee información substancial sobre las interacciones ecosistémicas en el espacio y en el tiempo (Larsen et al., 2010; Laudon et al., 2011; McElmurry et al., 2013; Fasching et al., 2014; Creed et al., 2015).

En los ambientes lóticos, la MOD está fuertemente influenciada por las características y los procesos de la cuenca como el clima (precipitaciones y temperatura), la cobertura vegetal, la presencia de permafrost y/o humedales, la pendiente del sistema y la descarga (Jaffé et al., 2008; Goodman et al., 2011; Laudon et al., 2011; McElmurry et al., 2013; Fasching et al., 2014). Debido a esto, las entradas de MOD alóctona desde la cuenca y los flujos de C en los ríos en general responden a cambios ambientales tanto a escala local como global (Bergamaschi et al., 2012; Xu et al., 2010, 2012). En los sistemas lóticos se recibe, se procesa y transforma la MOD de la cuenca de manera dinámica, produciéndose MOD nueva, la cual fluctúa estacionalmente y durante el transporte corriente abajo a lo largo de la trama fluvial (Vannote et al., 1980; Poole, 2010; Creed et al., 2015).

En los arroyos de cabecera, la MOD deriva primariamente de fuentes alóctonas como son las aguas subterráneas, el agua del suelo, las zonas de ribera y las aguas superficiales (Brooks et al., 1999; Hood et al., 2005). La mayor parte del flujo de COD hacia los arroyos se produce durante los momentos de mayor escorrentía (Boyer et al., 1997; Baker et al., 2000; Finlay et al., 2006).

Las aguas de cabecera de las cuencas con pendiente atlántica o pacífica que se extienden a ambos lados de los Andes patagónicos, nacen en las altas cumbres, drenando en algunos casos lagos de montaña y/o recibiendo directamente arroyos transitorios originados en el deshielo. Estos sistemas cruzan suelos rocosos o pobremente desarrollados por encima de la línea de vegetación y áreas más bajas cubiertas por bosques endémicos de *Nothofagus* (Paruelo et al., 1998a) hasta desembocar en grandes lagos profundos (Queimaliños et al., 2012; García et al., 2015b). Las cuencas andino-patagónicas comprenden algunos de los

sistemas de agua dulce más improductivos del mundo. Sus arroyos y lagos están caracterizados por una fuerte limitación por nutrientes (Pedrozo et al., 1993), concentraciones extremadamente bajas de COD (<1 mg/L) y niveles elevados de radiación ultravioleta (Morris et al., 1995) que actúan concomitantemente sobre diferentes procesos ecosistémicos (Mladenov et al., 2011; Queimaliños et al., 2012). Por ejemplo, el clima óptico subacuático reinante en las capas superficiales de los ambientes acuáticos andino-patagónicos favorece las reacciones fotoquímicas, influenciando los procesos biogeoquímicos e inhibiendo la presencia y, en algunos casos, la producción de los organismos acuáticos (Pérez et al., 2002, 2007, 2010; Marinone et al., 2006).

La mayoría de los estudios sobre la MOD en los ecosistemas andino-patagónicos están enfocados en la estimación directa o indirecta de la concentración de COD y su influencia en los climas ópticos de los lagos (Morris et al., 1995; Pérez et al., 2002, 2007, 2013). La vegetación de la cuenca sería la principal fuente alóctona de carbono particulado (Albariño y Díaz Villanueva, 2006) mientras que la precipitación y la escorrentía son el vehículo de transporte hacia la red fluvial (Albariño et al., 2009; Queimaliños et al., 2012; García et al., 2015b). La deposición atmosférica de nutrientes y MOD en estos ambientes, particularmente en altura, es escasa o nula (Mladenov et al., 2011). Las prognosis acerca de la dirección del cambio climático para la región Patagónica señalan posibles fluctuaciones en el volumen y régimen de las precipitaciones junto con el incremento de las temperaturas (Villalba et al., 2012), variables que afectan la magnitud y la sincronización de las contribuciones aloctónas hacia los sistemas acuáticos locales (Bastidas Navarro y Modenutti, 2012; Queimaliños et al., 2012). Por otro lado, si los niveles de radiación solar en la región continúan cambiantes se esperan fluctuaciones en su influencia sobre procesos foto-dependientes, como por ejemplo, en las reacciones fotoquímicas sobre la MOD. La fotooxidación de la MOD produce cambios en su disponibilidad y en su reactividad, con posibles efectos en cascada sobre diferentes compartimientos tróficos de los sistemas acuáticos (Häder et al., 2007, 2011).

Las cuencas andinas presentan impactos naturales que resultan de la combinación de disturbios frecuentes a escala regional como p.e. erupciones volcánicas (Daga et al., 2008, 2014), y también a escala local como deslizamientos, avalanchas e incendios forestales (Daniels y Veblen, 2003; Kitzberger, 2014). El Parque Nacional Nahuel Huapi (PNHN) se encuentra bajo la influencia de varios volcanes activos con alta frecuencia de erupción (Daga et al., 2008), principalmente el complejo Puyehue-Cordón Caulle (PCC) y los volcanes Chaitén y Calbuco (**Fig. i.7**). El 4 de junio del 2011, el complejo volcánico PCC (40° 30'S, 72° 12'O; 2236 m s.n.m.) entró en erupción, expulsando a la atmósfera una columna (altura:

11-15 km, ancho: 5 km) de piedra pómez, cenizas y gases que perduró hasta marzo de 2012 (Wilson et al., 2013; Daga et al., 2014). La erupción dispersó productos volcánicos hacia el sureste impactando tanto el área del PNHN como la estepa patagónica (**Fig. i.7**), alcanzando en un día el océano Atlántico y dando la vuelta al mundo pocos días después (Cardona et al., 2012; Klüser et al., 2013). La erupción del PCC depositó alrededor de 950 millones de toneladas de ceniza en la Patagonia argentina, creando una capa de material volcánico de diferente espesor y tamaño de partícula variable, dependiendo de la distancia desde la fuente (Chaneton et al., 2014). En la Patagonia, el vulcanismo determina las propiedades del suelo (Diehl et al., 2003), afecta la biota terrestre (Chaneton et al., 2014) y acuática induciendo cambios a nivel comunitario y causando la disrupción de las interacciones ecológicas (Modenutti et al., 2013; Elser et al., 2015). En los arroyos cercanos al PCC, la piedra pómez y la ceniza se acumularon sobre la vegetación ribereña y en el lecho de los arroyos, produciendo cambios en las comunidades y en los parámetros de calidad del agua (Lallement et al., 2014). En los lagos de la zona se produjo un aumento de STS que incrementó la turbidez, disminuyendo considerablemente la penetración de la luz, la concentración de fósforo y la biomasa del fitoplancton (Modenutti et al., 2013; Wilson et al., 2013; Balseiro et al., 2014).

Este capítulo se focaliza en el análisis de la dinámica temporal de los materiales transportados y en la determinación de los controles hidrológicos y bioquímicos de la MOD de cuatro arroyos que drenan una cuenca de cabecera andino-patagónica. Debido a que unas semanas después de comenzar la investigación se produjo la erupción del PCC, se analiza y discute el efecto de este evento estocástico sobre los arroyos y sobre la dinámica de la MOD.

I.2 OBJETIVO

Este capítulo tiene como objetivo analizar y caracterizar la variación temporal de la concentración de sólidos en suspensión y nutrientes, y de la concentración y calidad de la materia orgánica disuelta en los arroyos que drenan la cuenca del complejo lacustre Moreno, A° Casa de Piedra, A° Goye, A° López y A° De la Virgen (Patagonia, Argentina).

I.2.1 Hipótesis y predicciones

1-En los arroyos norpatagónicos, la concentración y la calidad de la MOD y los nutrientes se encuentran determinadas por la marcada estacionalidad del régimen de precipitación de la región. Por lo tanto, el ingreso de MOD desde la cuenca hacia los arroyos tendrá pulsos determinados por la frecuencia y la intensidad de los eventos de lluvia.

- 2- La MOD proveniente de los cuatro arroyos presenta un fuerte componente alóctono. Los indicadores de aloctonía serán particularmente elevados durante el otoño, época de máxima precipitación y escorrentía, y menor contribución de la producción primaria de los arroyos.
- 3- Las subcuencas de los cuatro arroyos presentan homogeneidad en cuanto cobertura y estructura vegetal. La dinámica de la MOD en los cuatro arroyos será semejante particularmente en cuanto a su calidad.
- 4- La deposición eventual de materiales de origen volcánico sobre la cuenca de estudio (p.e. ceniza volcánica proveniente de la erupción del complejo volcánico Puyehue Cordón-Caulle) afecta el ingreso y dinámica de los materiales en los arroyos. Los arroyos presentarán aumentos en la concentración de sólidos totales en suspensión y cambios en la concentración de nutrientes y en la cantidad y calidad de la MOD..

I.3 MATERIALES Y MÉTODOS

I.3.1 Sitios de muestreo

Los cuatro arroyos estudiados (Casa de Piedra, Goye, López y De la Virgen) fueron relevados durante 28 meses en una estación establecida próxima a sus desembocaduras (**Fig. I.1**). El punto de muestreo sobre el A° Casa de Piedra (41°07'48"S; 71°27'08"O; 833 m s.n.m.) está situado a ~3.3 km de distancia de la desembocadura y se caracteriza por poseer cobertura arbórea. El punto de muestreo sobre el A° De la Virgen (41°06'18"S; 71°29'06"O; 813 m s.n.m.) se encuentra a ~175 m de distancia de la desembocadura, en una zona con cobertura arbórea. El sitio de muestreo sobre el A° Goye (41°05'44"S; 71°31'04"O; 788 m s.n.m.) se encuentra a ~1.4 km de distancia de la desembocadura en un área con escasa cobertura arbórea. Por último, el punto de muestreo sobre el A° López (41°05'03"S; 71°32'51"O; 843 m s.n.m.) se sitúa a ~600 m de distancia de la desembocadura y presenta cobertura arbórea. La colecta de las muestras se realizó en forma mensual, iniciándose el 19 de mayo de 2011 y finalizando el 05 de septiembre de 2013. Además, se realizaron tres muestreos accesorios, fuera del esquema de muestreo mensual, en los arroyos Casa de Piedra y De la Virgen, en períodos de lluvias intensas y elevada escorrentía. Estos muestreos tuvieron como objetivo capturar el efecto de las lluvias en la incorporación de material en los arroyos. Las muestras de agua fueron colectadas durante las precipitaciones, con un máximo de dos horas desde el inicio de la lluvia.

Las metodologías de trabajo de campo para el registro del caudal en los arroyos y de los parámetros físico-químicos, así como las empleadas en el laboratorio para los análisis de

nutrientes y la caracterización de la materia orgánica (calidad y concentración), se encuentran detalladas en la sección de materiales y métodos generales. En el caso de los muestreos accesorios durante lluvias intensas, sólo se midió la concentración de STS, COD y nutrientes (NT y PT).

En dos fechas de muestreo (09/01/12 y 05/08/13), la fuerte corriente y el nivel elevado del agua impidieron el trazado del perfil de profundidades necesario para el cálculo del caudal en los A° Casa de Piedra y Goye. Debido a esto, el perfil de profundidades fue estimado a partir del perfil de la fecha anterior de muestreo, sumándole el incremento en profundidad del arroyo entre ambas fechas, medida en un punto fijo del arroyo (vara graduada instalada en el punto de muestreo).

Los datos meteorológicos del período de estudio fueron obtenidos de la estación meteorológica (Davis Vantage Pro, Estados Unidos) localizada en el Laboratorio de Fotobiología (INIBIOMA, CONICET-UNComahue) como fue detallado en la sección de materiales y métodos generales.

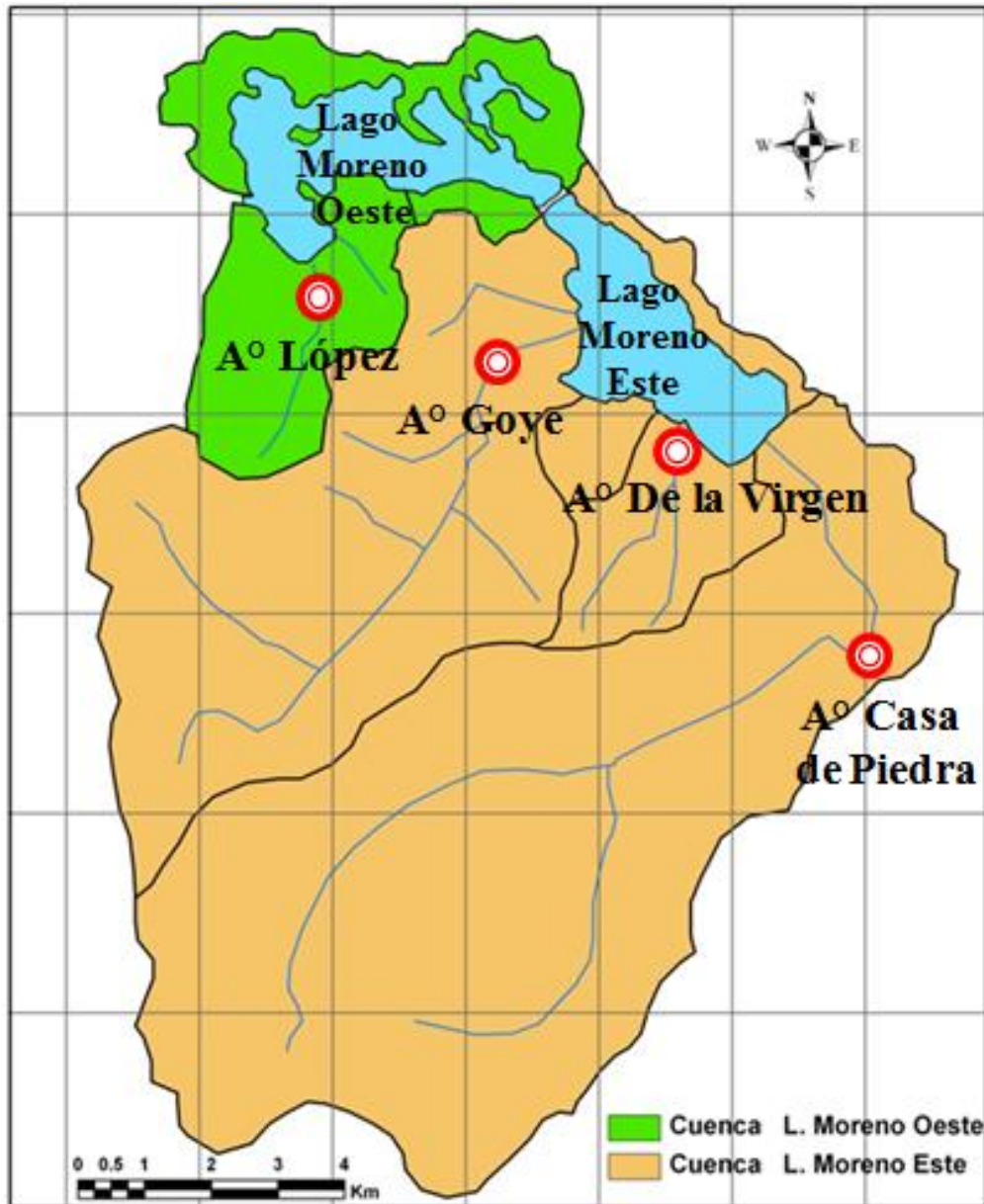


Figura I.1. Mapa de la cuenca del complejo lacustre Moreno. Ubicación geográfica de los puntos de muestreo en los arroyos tributarios del complejo lago Moreno (S. C. de Bariloche).

Dos semanas luego de iniciada la investigación, el día 4 junio de 2011, se produjo la erupción del PCC. La cuenca de estudio recibió piedra pómez y ceniza que se depositó sobre el suelo y la vegetación (**Fig. I.2**). Parte del material volcánico fue transportado hacia los arroyos y los lagos debido a la escorrentía generada por lluvias torrenciales en días subsiguientes a la erupción (Daga et al., 2014). Debido a esto, se discutió en el marco de esta investigación el efecto de la deposición de ceniza sobre la dinámica de los materiales en los arroyos.

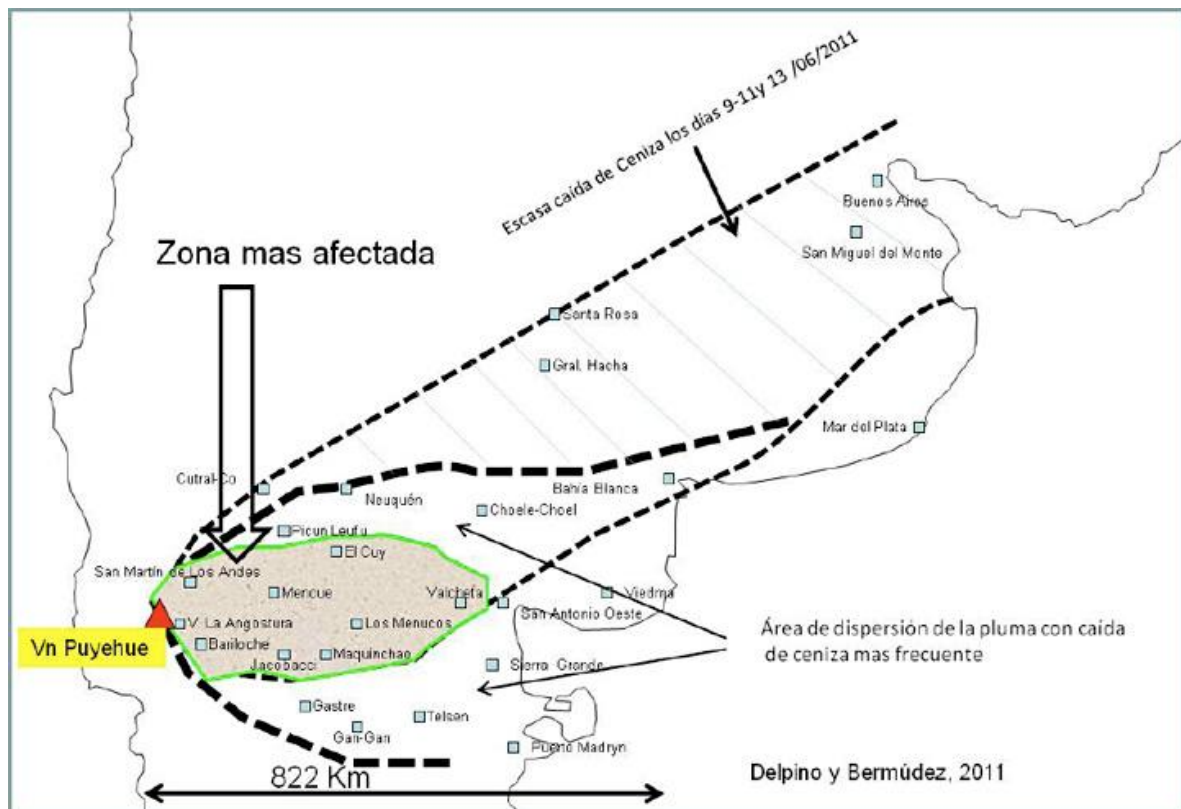


Figura I.2. Áreas de dispersión de los depósitos piroclásticos del complejo volcánico Puyehue-Cordón Caulle durante la erupción ocurrida en el año 2011 (Tomado de Bermúdez y Delpino, 2011).

I.3.2 Análisis de datos

Además de los análisis detallados en la sección de materiales y métodos generales, en este capítulo se aplicó un análisis de componentes principales (PCA) incluyendo datos de nueve variables medidas en los cuatros arroyos: precipitación, conductividad, concentración de COD, concentración de NT, concentración de PT, concentración de STS y la intensidad de fluorescencia de los componentes obtenidos. El PCA fue realizado con el software CANOCO 4.5 (ter Braak y Smilauer, 1998). Los valores de la concentración de COD y los parámetros a_{350} y Em_{370} se ajustaron a modelos lineales simples a fin de estimar el porcentaje de MODnC y MODnF, respectivamente.

I.4 RESULTADOS

I.4.1 Características de la cuenca y parámetros físico-químicos de sus arroyos

Durante el período de estudio, la temperatura del aire presentó una variación estacional marcada (**Fig. I.3**). Las temperaturas medias diarias de primavera fluctuaron entre 5

y 10 °C, mientras que en el verano variaron entre 10 y 23 °C. Las temperaturas medias de otoño-invierno fluctuaron entre -5 y 5 °C (**Fig. I.3**).

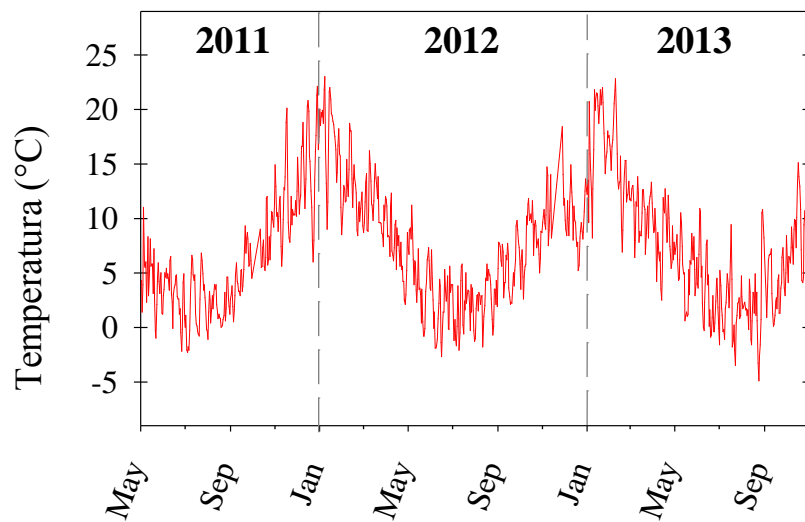


Figura I.3. Temperatura media del aire durante el período de estudio (Datos de la estación meteorológica EMMA, Laboratorio de Fotobiología, INIBIOMA CONICET-Universidad Nacional del Comahue, San Carlos de Bariloche).

Los cuatro arroyos muestreados reflejaron en sus patrones térmicos la variación de la temperatura ambiental, con valores medios entre 3 y 6 °C en otoño-invierno, y entre 6 y 12 °C en primavera-verano. Los cuatro arroyos presentaron un régimen térmico similar (**Fig. I.4; Tabla I.1**).

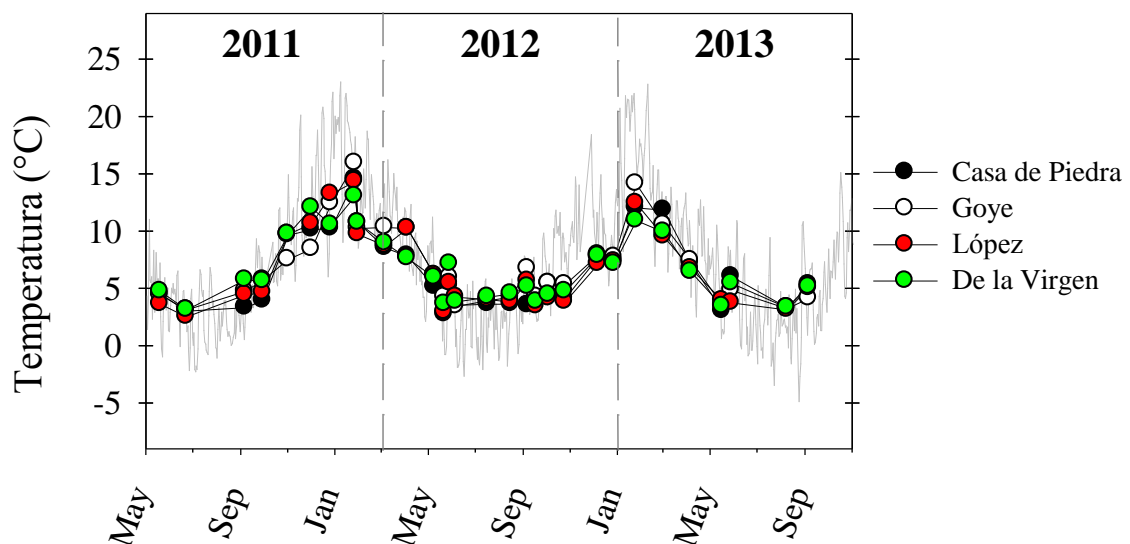


Figura I.4. Temperatura del agua en los cuatro arroyos andino-patagónicos durante el período de estudio. La línea gris indica la temperatura media del aire, obtenida de la estación meteorológica EMMA.

El período de estudio resultó más seco que años anteriores. Las precipitaciones anuales acumuladas en el período de estudio fueron de 986 mm/año (2011), 919 mm/año (2012) y 937 mm/año (2013), mientras que los años precedentes presentaron mayores precipitaciones acumuladas (2009 = 1459 mm/año; 2010 = 1205 mm/año) según registros de la estación meteorológica del Laboratorio de Fotobiología (Centro de Salmonicultura, Bariloche). Si bien se registraron lluvias torrenciales durante la primavera y el verano en el período de estudio, el 67% de las precipitaciones totales estuvieron concentradas en otoño-invierno. La mayoría de las lluvias no superaron los 20 mm/día, aunque se registraron máximos de hasta 63 mm/día. En junio de 2011, durante la erupción del volcán PCC se produjeron lluvias torrenciales de hasta 28 mm/día, que se extendieron durante casi dos semanas después del evento (**Fig. I.5**).

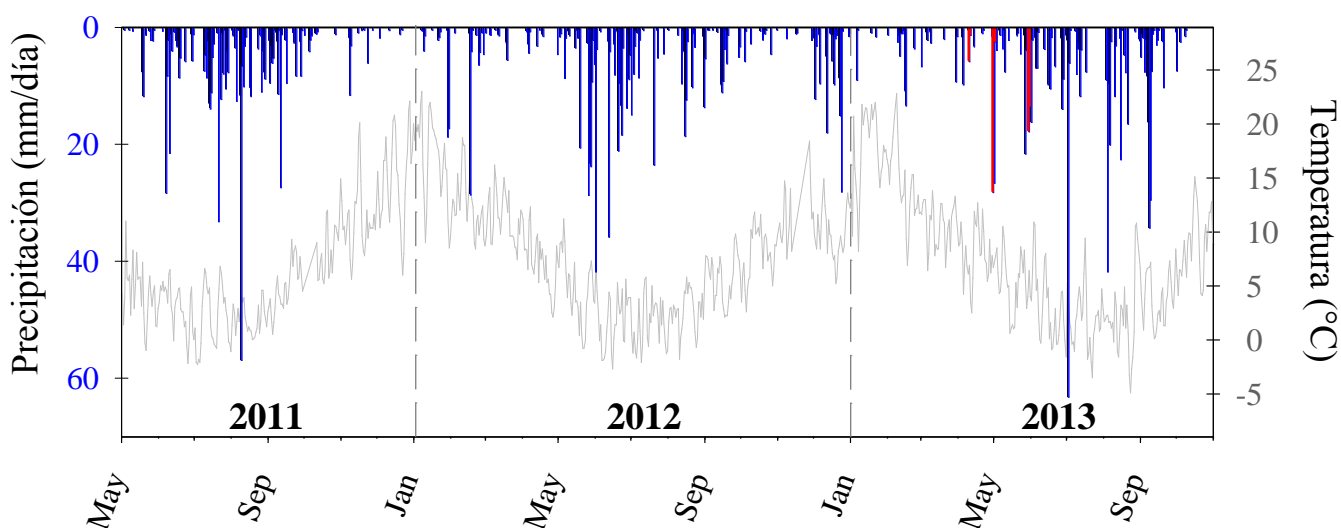


Figura I.5. Precipitaciones diarias de la región (azul) durante el período de estudio. La línea gris indica la temperatura media del aire (Datos obtenidos de la estación meteorológica EMMA). Las barras en rojo indican las tres fechas de muestreos adicionales en los arroyos Casa de Piedra y De la Virgen, durante lluvias torrenciales.

La conductividad fue muy baja durante todo el año, fluctuando entre los 20-50 μS en los arroyos Casa de Piedra, Goye y López. En el caso del A° De la Virgen, la conductividad fue comparativamente más alta, tomando valores entre 40-70 μS (**Fig. I.6; Tabla I.1**). Los cuatro arroyos registraron una disminución en los valores de conductividad coincidiendo con períodos de alta precipitación y descarga (**Fig. I.6**).

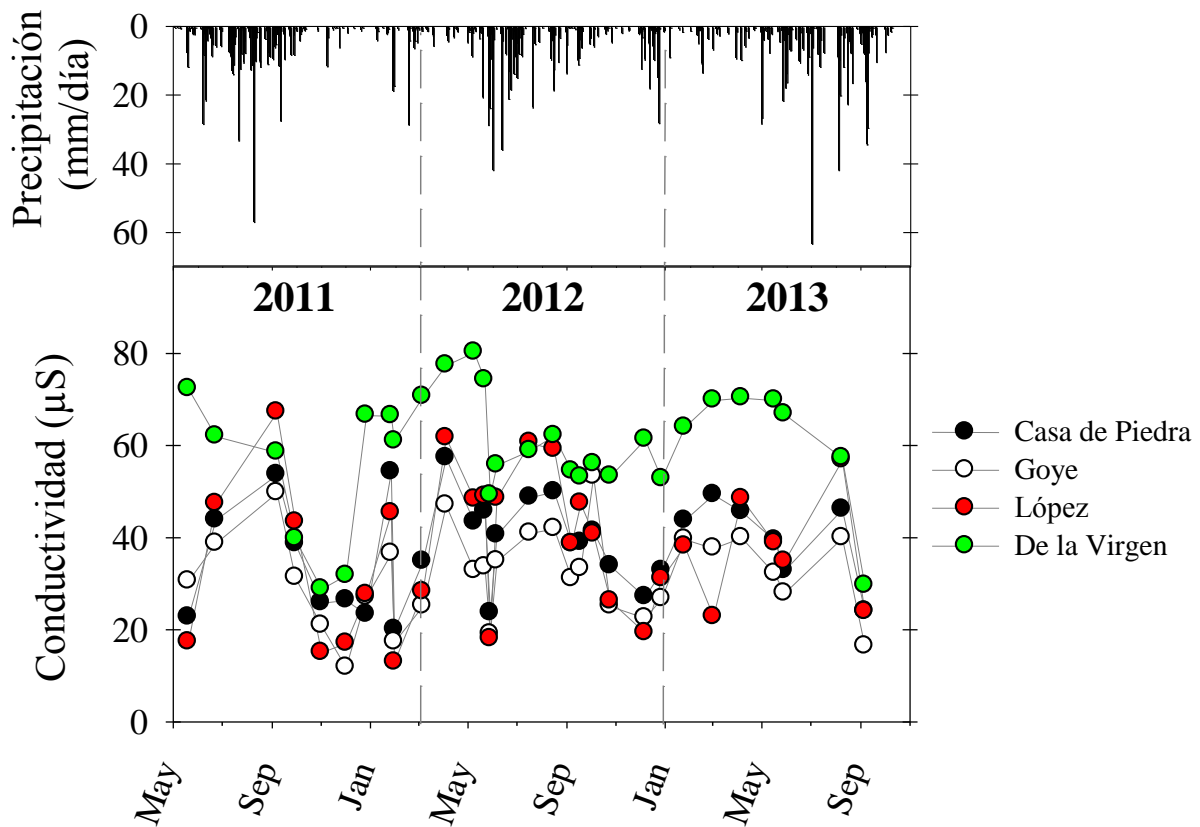


Figura I.6. Precipitaciones diarias (panel superior) y conductividad del agua (panel inferior) en los cuatro arroyos andino-patagónicos a lo largo del período de estudio.

Los valores de pH fluctuaron alrededor de la neutralidad dentro de un rango de 6.4-7.8, en todos los arroyos (**Tabla I.1**). La concentración de oxígeno disuelto (O_2) fue similar en los cuatro arroyos a lo largo del período de estudio, presentando concentraciones promedio entre 9 y 12 mg/L (**Tabla I.1**). La concentración de clorofila *a* (*chl a*) en el epilítion varió entre 2-12 mg/m² durante todo el año. Los valores medios más bajos fueron registrados en el A° López (2.8 mg/m²), mientras que los más altos fueron registrados en el A° De la Virgen (10.1 mg/m²) (**Tabla I.1**).

Tabla I.1. Parámetros limnológicos del agua y concentración de clorofila *a* (Cl *a*) en los cuatros arroyos de montaña que drenan la cuenca del complejo lago Moreno. Los valores corresponden a la media (± 1 DS). Unidades: temperatura ($^{\circ}\text{C}$); conductividad (μS); O_2 = Oxígeno disuelto (mg/L); Cl *a* = concentración de clorofila *a* en el epilíton (mg/m^2).

Arroyo		VERANO	OTOÑO	INVIERNO	PRIMAVERA
Casa de Piedra	Temperatura	10.8 (2.4)	5.2 (1.9)	3.8 (0.7)	6.9 (2.7)
	Conductividad	37.1 (12.9)	41.2 (9.9)	40.9 (11.0)	32.2 (6.7)
	pH	7.5 (0.6)	6.7 (0.8)	7.5 (0.6)	7.6 (0.3)
	O_2	9.2 (1.0)	11.0 (0.9)	10.6 (2.8)	11.7 (1.7)
	Cl <i>a</i>	7.9 (2.8)	9.2 (5.6)	8.1 (2.3)	6.9 (1.6)
Goye	Temperatura	11.7 (2.8)	5.8 (2.6)	4.4 (1.0)	6.8 (1.4)
	Conductividad	30.2 (8.2)	33.6 (9.9)	36.0 (9.5)	27.7 (14.1)
	pH	7.3 (0.2)	6.7 (0.7)	7.4 (0.6)	7.7 (0.4)
	O_2	12.2 (0.5)	10.9 (1.0)	10.9 (1.2)	11.8 (3.0)
	Cl <i>a</i>	6.2 (1.9)	5.1 (3.7)	8.5 (2.4)	6.0 (3.2)
López	Temperatura	10.8 (2.6)	5.5 (2.3)	4.0 (1.0)	6.8 (3.0)
	Conductividad	29.6 (10.4)	43.6 (13.0)	46.7 (17.0)	27.1 (12.3)
	pH	7.3 (0.4)	6.8 (0.6)	7.5 (0.6)	7.5 (0.3)
	O_2	11.0 (0.9)	11.4 (0.6)	11.1 (0.5)	9.8 (1.8)
	Cl <i>a</i>	3.0 (0.8)	4.3 (2.3)	3.7 (1.5)	2.8 (1.4)
De la Virgen	Temperatura	10.2 (1.8)	5.5 (1.6)	4.5 (0.9)	7.5 (3.0)
	Conductividad	64.6 (6.1)	68.1 (10.6)	56.6 (11.5)	45.3 (13.6)
	pH	7.4 (0.2)	6.7 (0.6)	7.4 (0.5)	7.5 (0.2)
	O_2	12.0 (1.5)	10.9 (1.5)	11.1 (1.0)	9.6 (1.9)
	Cl <i>a</i>	10.1 (4.8)	9.6 (3.6)	6.0 (2.4)	4.3 (1.0)

Los caudales más altos fueron registrados en los arroyos Casa de Piedra y Goye fluctuando entre 0.1 y 4.8 m^3/s . Los arroyos López y De la Virgen presentaron caudales comparativamente menores, fluctuando entre 0.02 y 1.8 m^3/s (**Fig. I.7**). Se observó una correlación positiva significativa entre las precipitaciones y el caudal en tres de los cuatro arroyos muestreados, debido a las crecidas producto de las lluvias (**Tabla I.2**). Sin embargo, estas variables no se correlacionaron significativamente en el A° Casa de Piedra, probablemente debido a una subestimación del caudal durante períodos de alta descarga. Las

fuertes descargas en el A° Casa de Piedra imposibilitaron la obtención del perfil de profundidades, necesario para el cálculo del caudal. Durante 2011 no se registraron valores del caudal debido a que no se contaba con un flujómetro.

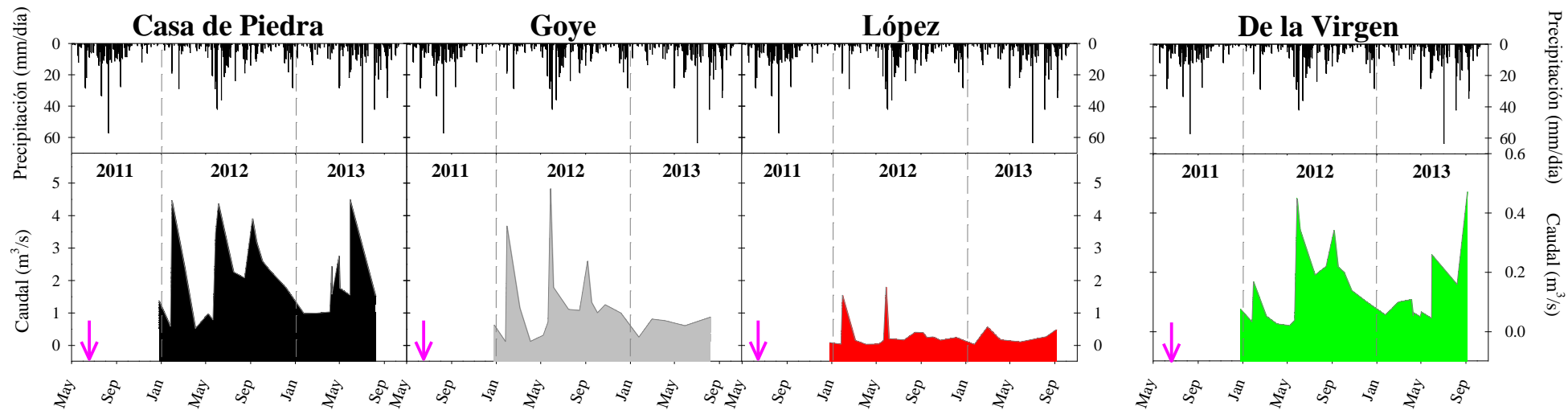


Figura I.7. Precipitaciones diarias (panel superior) y caudal (panel inferior) en los cuatro arroyos andino-patagónicos durante el período de estudio. La flecha indica la erupción del complejo volcánico Puyehue-Cordón Caulle el 4 de junio del 2011. Nótese que si bien en el año 2011 no se registró el caudal, el patrón de precipitación fue semejante a los años 2012 y 2013.

Tabla I.2. Resultados del análisis de correlación entre la precipitación y diferentes parámetros de los arroyos (Prueba de correlación de Pearson, * = $p < 0.05$; ** = $p < 0.001$; † = $p > 0.05$; con $n = 21-30$). Prec: Precipitación; STS: Sólidos totales en suspensión; COD: Carbono orgánico disuelto; PT: Fósforo total; NT: Nitrógeno total.

Variables	Casa de Piedra	Goye	López	De la Virgen
Prec-Caudal	0.301 [†]	0.753**	0.852**	0.542**
Prec-STS	0.353*	0.539**	0.513**	0.562**
Prec-COD	0.769**	0.774**	0.702**	0.844**
Prec-PT	0.524**	0.255 [†]	0.668**	0.679**
Prec-NT	0.644**	0.356 [†]	0.278 [†]	0.602**

Los eventos de lluvias se reflejaron en un rápido aumento del caudal de los arroyos, así como también en un incremento en las concentraciones de sólidos totales en suspensión (STS), COD, fósforo total y nitrógeno total (**Tabla I.2**). Estos aumentos de materiales particulados y disueltos reflejan el arrastre de material terrestre debido a la escorrentía por eventos de lluvia. Las concentraciones basales de STS de los arroyos fluctuaron alrededor de 1 mg/L, mientras que durante los períodos de lluvia alcanzaron un máximo de 64 mg/L en el A° De la Virgen y entre 20 y 40 mg/L en el resto de los arroyos (**Fig. I.8**). En el caso del COD, la concentración promedio fue de 0.5 mg/L y alcanzó un máximo de hasta 3.8 mg/L durante eventos de lluvias fuertes en el A° De la Virgen y de ~1.3 mg/L en el resto de los arroyos. Asimismo, las concentraciones basales de nutrientes fueron muy bajas en todos los cursos de agua (PT: ~5 µg/L; NT: ~98 µg/L), con un importante incremento durante períodos de lluvias torrenciales. Durante eventos de lluvia se registraron valores de PT de hasta 141 µg/L en el caso del A° De la Virgen y de hasta 45-60 µg/L en el resto de los arroyos, mientras que en el caso del NT se registraron valores de hasta 520 µg/L en el caso del A° De la Virgen y de hasta 200-300 µg/L en el resto de los arroyos (**Fig. I.8; Tabla I.2**). Este incremento en los nutrientes observado en los períodos de lluvia corresponde a valores de hasta 29 veces más alto que los niveles basales de PT y hasta 5.5 más alto que los niveles basales NT. Estacionalmente, los períodos de mayor precipitación (otoño-invierno) presentaron las mayores concentraciones promedio teniendo en cuenta todos los arroyos, mientras que en la primavera se obtuvieron valores intermedios entre las estaciones lluviosas y los niveles basales registrados en el verano (**Tabla I.3**). Particularmente, en primavera se registró el promedio más bajo de aromaticidad de la MOD (**Tabla I.3**).

El primer evento de lluvia de cada estación fue el más importante en términos del incremento de las concentraciones de STS, de COD y de nutrientes, mientras que las lluvias subsiguientes generaron un efecto menor. Un dato interesante es que no se observaron grandes cambios en STS, COD y nutrientes después de la erupción del complejo volcánico PCC. Los registros mostraron un patrón similar al observado después de eventos de precipitación.

En términos generales, la concentración de COD fue siempre mayor en el arroyo De la Virgen que en el resto de los arroyos, con valores entre 0.49-3.81 mg/L y un valor medio de 1.2 mg/L. En contraste, los arroyos Casa de Piedra, Goye y López presentaron concentraciones de COD comparativamente más bajas, en un rango entre 0.15 y 1.3 mg/L, con valores medios alrededor de 0.5 mg/L (**Fig. I.8**).

TablaI.3. Valores medios (DS) de parámetros de los arroyos en las distintas estaciones del año. STS: Sólidos totales en suspensión; COD: Carbono orgánico disuelto; PT: Fósforo total; NT: Nitrógeno total; a_{254} : Coeficiente a absorción a 254 nm.

	Caudal (m ³ /sg)	STS (mg/L)	COD (mg/L)	PT (µg/L)	NT (µg/L)	a_{254} (m ⁻¹)
Primavera	0.92 (0.90)	1.94 (3.49)	0.37 (0.18)	4.89 (5.89)	80 (40)	2.92 (1.40)
Verano	0.53 (1.17)	1.50 (13.06)	0.53 (0.47)	4.92 (13.80)	100 (90)	4.19 (5.64)
Otoño	0.91 (1.29)	4.12 (6.71)	0.75 (0.59)	7.58 (11.44)	150 (120)	5.29 (4.79)
Invierno	1.29 (1.31)	1.37 (2.19)	0.56 (0.31)	3.77 (2.83)	110 (50)	4.37 (2.32)

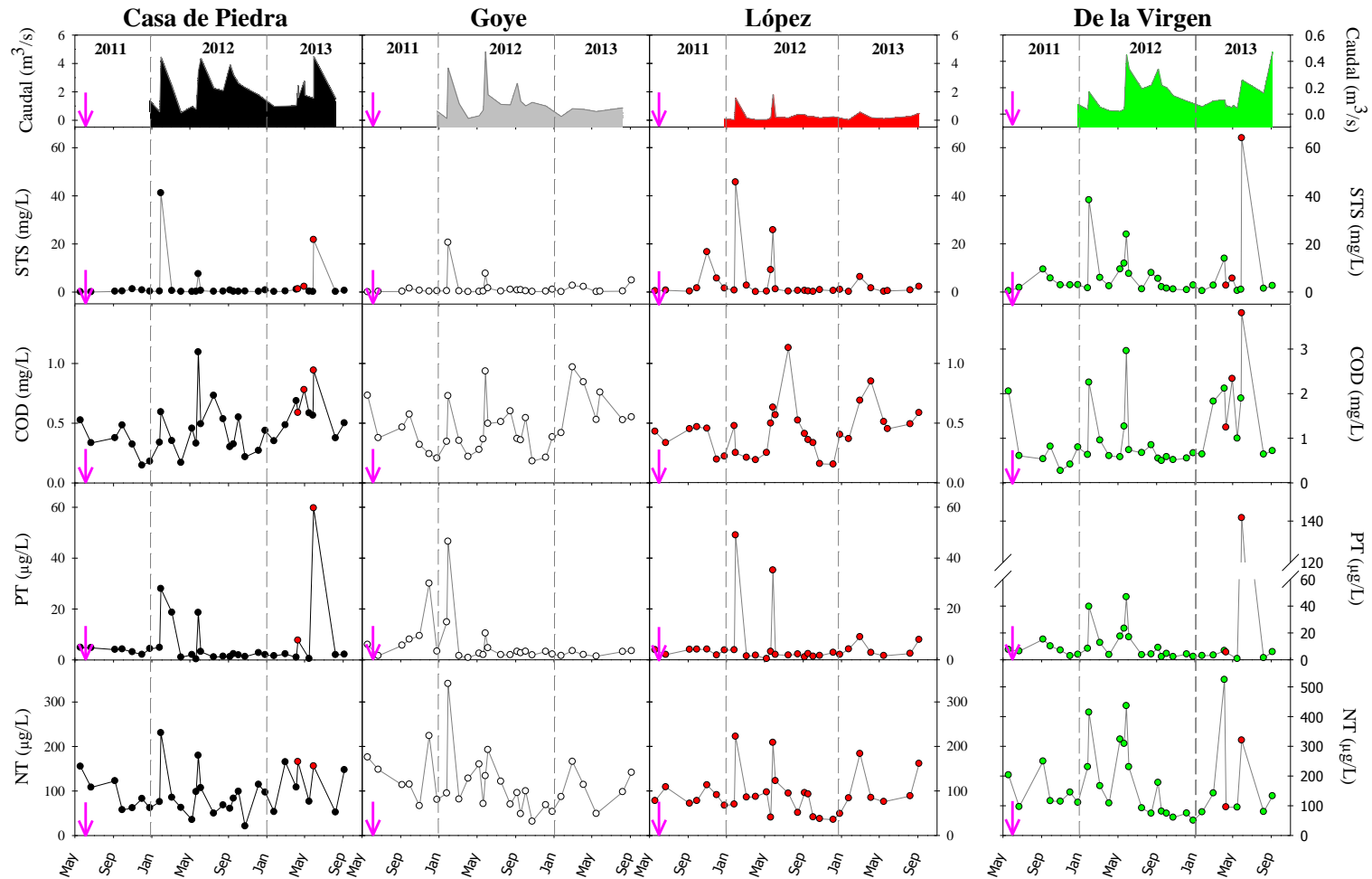


Figura I.8. Variación estacional del caudal (panel superior), y concentración de sólidos totales en suspensión (STS), carbono orgánico disuelto (COD), fósforo total (PT) y nitrógeno total (NT) en cuatro arroyos andino-patagónicos. La flecha indica la erupción del complejo volcánico Puyehue-Cordón Caulle el 4 de junio del 2011. Los puntos rojos indican las tres fechas de muestreos adicionales en los arroyos Casa de Piedra y De la Virgen, durante lluvias torrenciales.

I.4.2 Caracterización de la MOD mediante análisis de absorbancia y fluorescencia

Los coeficientes de absorción a_{254} , a_{350} y a_{440} presentaron una correlación positiva con la concentración de COD en todos los arroyos estudiados (**Fig. I.9**). Los valores más altos de los coeficientes de absorción mencionados se presentaron durante períodos de fuertes precipitaciones y escorrentía, coincidiendo con el aumento de la concentración del COD. Este patrón indica un ingreso de MOD con mayor aromaticidad (a_{254}), mayor contenido de lignina (a_{350}) y coloración (a_{440}) durante eventos de precipitación.

En la relación entre el COD y el a_{350} , la intersección en el eje X es indicadora de la fracción de MOD no cromofórica (MODnC) (**Fig. I.9**). En los cuatro arroyos, la fracción de MODnC fue siempre menor al 7% del COD (**Tabla I.4**). Esta fracción fue máxima en el arroyo De la Virgen (6.8%), seguido por el A° Casa de piedra (4.72%), el A° Goye (3.58%) y el A° López (0%) (**Tabla I.4**). Estos valores bajos de MODnC indican que el análisis de la MODC es un indicador fiel de la concentración de la MOD en estos arroyos de cabecera.

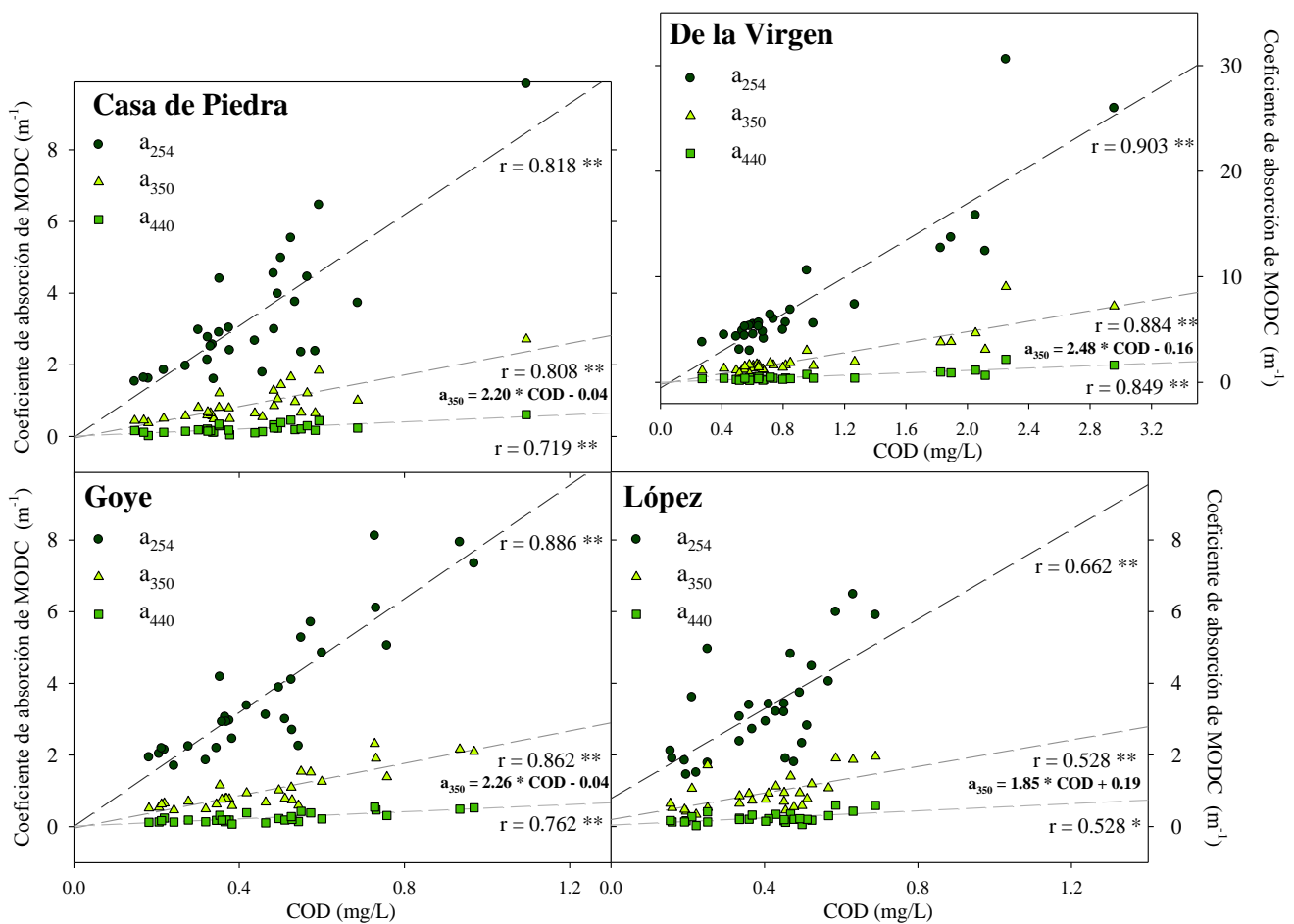


Figura I.9. Relación entre la concentración de COD y los coeficientes de absorción a_{254} , a_{350} y a_{440} en cuatro arroyos andino-patagónicos (* = $p < 0.05$; ** = $p < 0.001$; $n = 28-30$).

Tabla I.4. Relación entre la concentración de COD y el coeficiente a_{350} (indicador de la MODC). La intersección en el eje X fue utilizada para estimar el % de MODnC del promedio de COD de cada arroyo. Una intersección positiva en el eje de las X indica que no toda la MOD es cromofórica (Spencer et al., 2008; 2012) (r^2 = coeficiente de regresión; * = $p < 0.001$).

	Casa de Piedra	Goye	López	De la Virgen
r^2	0.65	0.75	0.35	0.78
F	50.94 *	82.64 *	13.8 *	100.37 *
Intersección eje X (mg/L)	0.02	0.02	-0.11	0.07
COD promedio (mg/L)	0.427	0.467	0.396	0.972
% MOD no cromofórica	4.72	3.58	0	6.82

El cálculo de la relación a_{350}/COD y de la pendiente espectral $S_{275-295}$ en los arroyos de estudio y su comparación con los datos de Fichot y Benner (2012), permitió determinar que los cuatro arroyos andinos se encuentran comprendidos en el extremo inferior del modelo propuesto por dichos autores (**Fig. I.10**). En el contexto de este modelo, la MOD de los arroyos andino-patagónicos analizados puede ser caracterizada principalmente por la dominancia de compuestos de alto peso molecular (reflejado por valores bajos de $S_{275-295}$) y con un contenido variable de lignina (indicado por el a_{350}/COD). Del mismo modo, todos los arroyos presentaron valores bajos de S_R , variando entre 0.54 y 1.32, con un valor promedio de 0.84, indicativo de MOD de alto peso molecular y de origen alóctono (**Fig. I.11**). En la primavera del año 2011, posteriormente a la erupción del PCC, la MOD presentó menor tamaño molecular. En el A° Goye el parámetro S_R se correlacionó de manera negativa con la precipitación y con el caudal (S_R -Precip: $r = -0.384$, $p = 0.0395$; S_R -Caudal: $r = -0.526$, $p = 0.0173$; con $n = 21-30$).

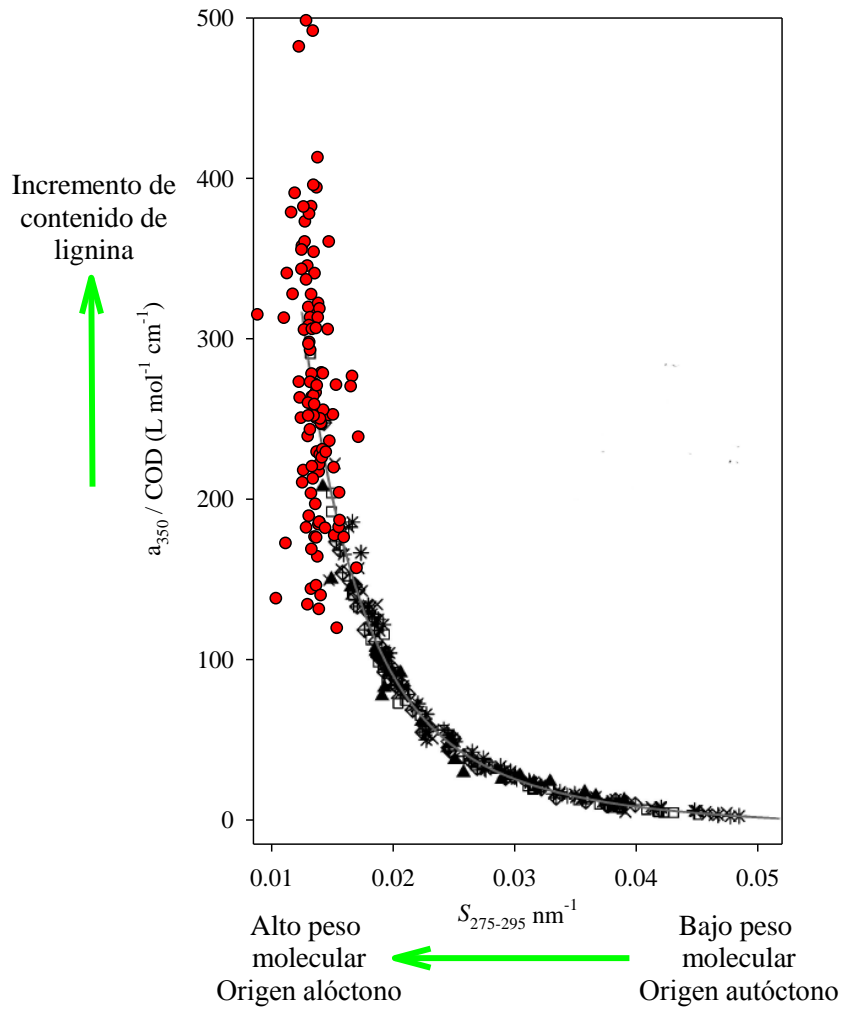


Figura I.10. Relación entre la pendiente espectral para el intervalo 275-295 nm ($S_{275-295}$) y el coeficiente de absorción a 350 nm normalizado por la concentración de carbono orgánico disuelto (a_{350}/COD) en cuatro arroyos andino-patagónicos en el contexto del modelo propuesto por Fichot y Benner (2012). La línea continua de color gris representa el modelo general, los símbolos negros corresponden a valores medidos por los autores del modelo y los puntos rojos corresponden a los arroyos andino-patagónicos estudiados.

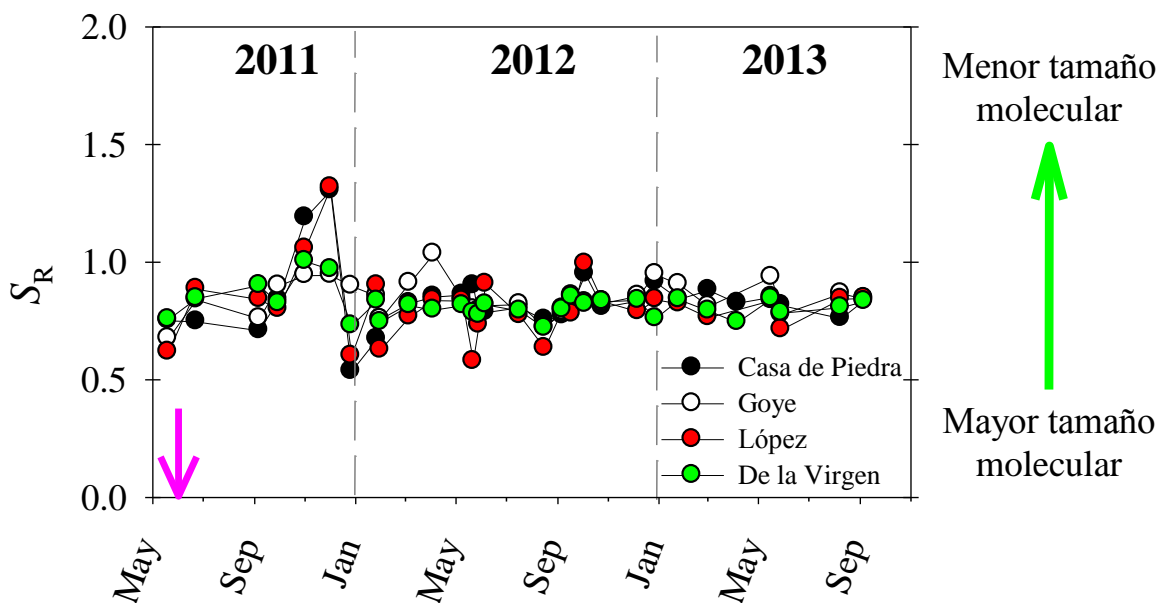


Figura I.11. Fluctuación del parámetro S_R en los cuatro arroyos andino-patagónicos durante el período de estudio. La flecha indica la erupción del complejo volcánico Puyehue-Cordón Caulle el 4 de junio del 2011.

El índice de humificación (HIX) de los arroyos osciló entre 0.8 y 1.0, con valores medios de ~ 0.9 (**Fig. I.12**). El índice de MOD recientemente producida (BIX) presentó valores medios de ~ 0.6 (**Fig. I.12**). El BIX y el HIX se correlacionaron negativamente en todos los arroyos (Casa de Piedra: $r = -0.623$, $p < 0.001$; Goye: $r = -0.5$, $p < 0.05$; López: $r = -0.729$, $p < 0.001$; De la Virgen: $r = -0.885$, $p < 0.001$), indicando el origen alóctono de la MOD. Durante el período de primavera-verano del 2011, luego de la erupción del complejo volcánico PCC se registraron valores intermedios y altos de BIX.

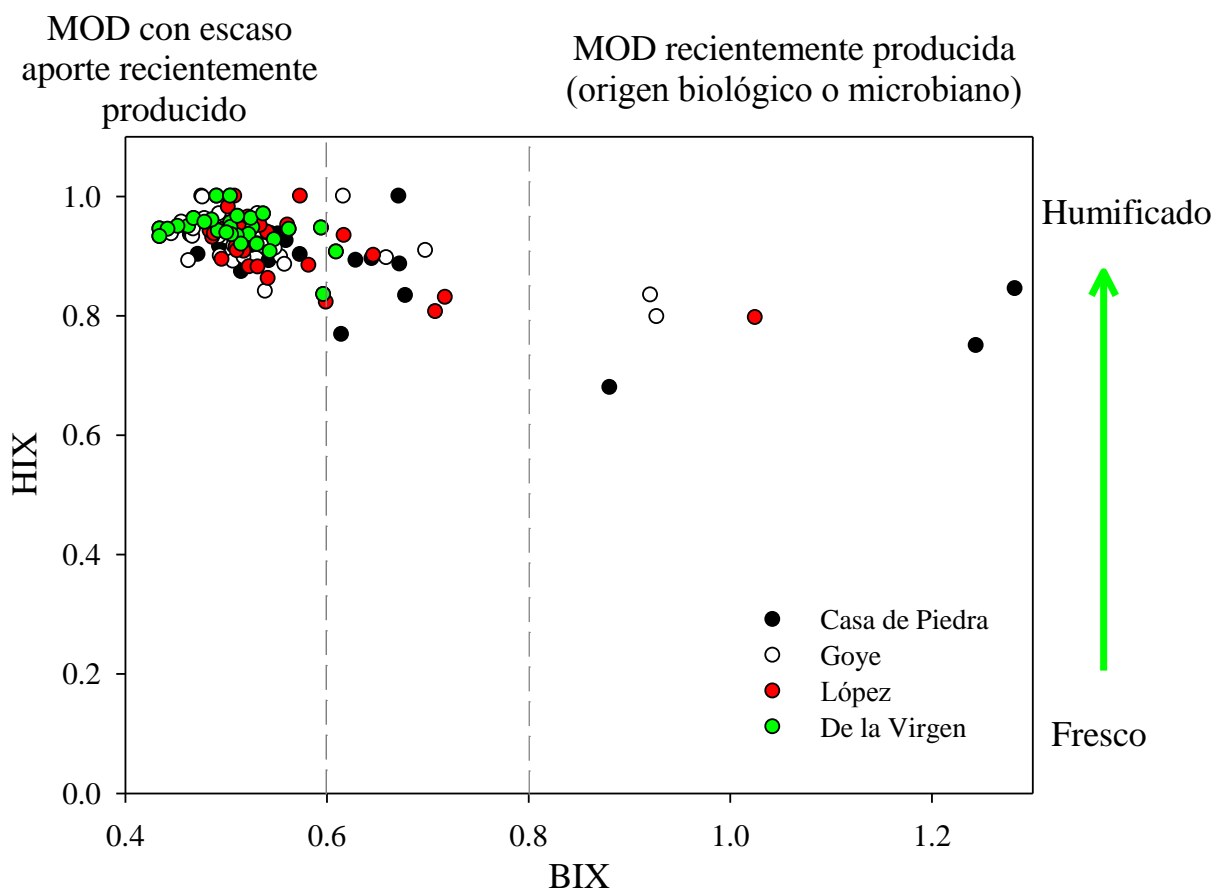


Figura I.12. Relación entre el índice de humificación (HIX) y el índice de MOD recientemente producida por la microbiota (BIX) en los cuatro arroyos andino-patagónicos. Las líneas discontinuas indican los valores reportados por Birdwell y Engel (2010) y Walker et al. (2013).

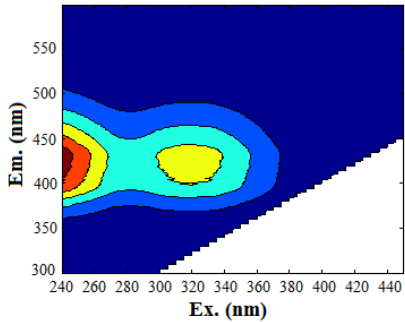
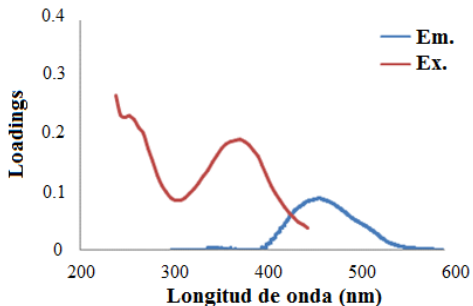
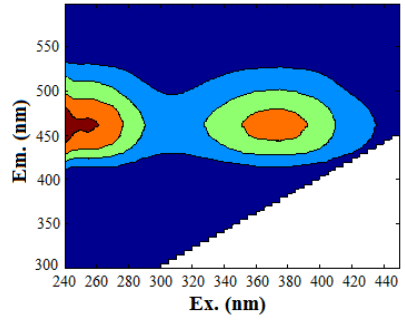
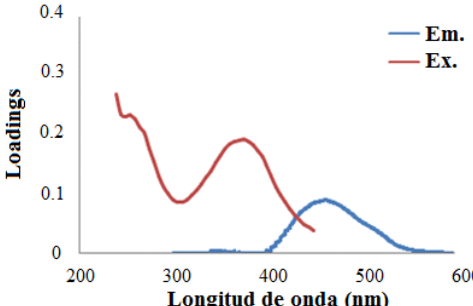
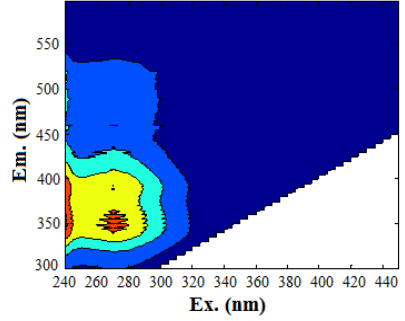
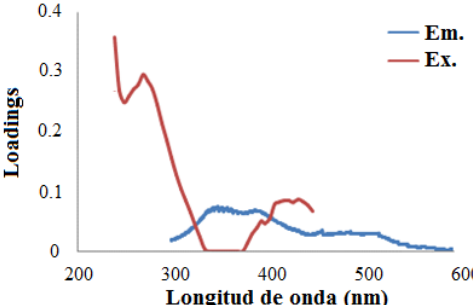
I.4.3 PARAFAC

El análisis de factores paralelos (PARAFAC) incluyendo las EEMs obtenidas de los cuatro arroyos, identificó tres componentes fluorescentes o fluoróforos (C1, C2 y C3) que contribuyen a la MODF (**Tabla I.5**). Al comparar estos fluoróforos con la base de datos OpenFluor (Murphy et al., 2014) tanto el C1 como el C2 se asemejaron a componentes de otros ambientes acuáticos atribuidos a sustancias tipo húmicas derivadas del ambiente terrestre (Osburn y Stedmon, 2011; Stedmon et al., 2011b, 2011c; Yamashita et al., 2011; Cawley et al., 2012; Graeber et al., 2012; Walker et al., 2013; entre otros). La comparación de los componentes obtenidos con la base de datos del OpenFluor indicó una similitud mayor al 95%. El C1 y C2 se caracterizaron por presentar dos máximos de excitación en un espectro de emisión, como una combinación de dos picos de fluorescencia (**Tabla I.5**). El C1 presentó un máximo de excitación principal a 240 nm y un máximo secundario a 310 nm, ambos con

emisiones máximas en 429.5 nm, conocidos como picos A+M. El C2 tiene un máximo de excitación primaria a 240 nm y un pico secundario a 375 nm, con un máximo de emisión a 462 nm, refiriéndolo a menudo como la combinación de los picos A+C (**Tabla I.5**). Todos los máximos de fluorescencia incluidos en los componentes C1 y C2, asociados a los picos A, M y C, han sido descriptos como sustancias húmicas (Coble, 1996, 2007; Stedmon et al., 2003). Por otra parte, el C3 hallado en este estudio no se asemejó a ningún componente de la base de datos OpenFluor. Como en los casos de los componentes C1 y C2, el C3 aparentemente incluiría una combinación de dos máximos fluorescentes que el PARAFAC identifica como un único componente. El máximo de excitación primaria se encontró en 270 nm, con un máximo de emisión en 349.5 nm asociado a una sustancia similar al triptófano, conocida como pico T (Coble, 1996; Stedmon et al., 2003; De Laurentiis et al., 2012). El máximo de excitación secundaria fue encontrado a ~410 nm con un máximo de emisión probablemente mayor a los 600 nm. Este último se encuentra en el límite superior de la matriz aplicada, por lo tanto, no resultó adecuada para detectar emisiones superiores a esa longitud de onda (**Tabla I.5**). Este máximo se asemejaría al patrón de excitación-emisión que presentan algunos pigmentos, como han descrito Coble et al. (1998) y Coble (2007). De esta manera, el C3 incluye dos máximos de fluorescencia que se asemejan a máximos reportados previamente para compuestos similares a proteínas y pigmentos (Coble, 2007). Las intensidades de fluorescencia de C1 y C2 aumentaron rápidamente junto con los eventos de precipitación y el consecuente incremento del caudal de los arroyos (**Fig. I.13**), presentando en todos los arroyos una correlación positiva fuerte con las lluvias, con la concentración de COD, y con los coeficientes a_{350} , a_{254} y a_{440} (**Tabla I.7**). Las mayores intensidades de fluorescencia se observaron en el A° De la Virgen, mientras que en los arroyos restantes las intensidades resultaron más bajas y similares entre sí (**Fig. I.13**). En conjunto, la asociación del C1 y C2 a sustancias tipo húmicas y la dominancia de estos dos componentes en los cuatro arroyos indican que la MODF está constituida por material derivado del medio terrestre. El C1 predominó a lo largo del ciclo anual, representando en promedio un 60% de la fluorescencia total de la MOD. Durante la primavera del 2011, el C1 declinó un 35-45% probablemente debido al efecto de la deposición de ceniza volcánica en las cuencas. Por el contrario, la contribución del C3 fue casi siempre baja (~10%), excepto durante la primavera cuando aumentó su contribución hasta un 20-25%. En la primavera del 2011, después de la erupción volcánica, el componente 3 contribuyó excepcionalmente, representando ~40-55% de la fluorescencia total en los arroyos Casa de Piedra, Goye y López, y ~30% en el A° De la Virgen. En este último, el C3 se correlacionó de manera positiva con la precipitación, con el

COD, con los coeficientes de absorción (a_{254} , a_{350} y a_{440}) y con los componentes C1 y C2 (**Tabla I.7**). Sin embargo, estas relaciones no resultaron significativas en los otros tres arroyos. Cabe mencionar que el componente proteico se ha relacionado también con la producción primaria acuática (Coble, 1996; Fellman et al., 2010), sin embargo, en este caso el C3 no se correlacionó con la concentración de clorofila *a* del perifiton (**Tabla I.7**).

Tabla I.5. Ubicación de los máximos de fluorescencia (máximos secundarios entre paréntesis), representación en la matriz de excitación-emisión y espectros de las cargas (loadings) de los tres componentes identificados mediante el análisis PARAFAC (Ex: Excitación; Em: Emisión).

Componente	Máx.Ex (nm)	Máx.Em (nm)	EMM	Cargas de los espectros
1	240 (310)	429.5		
2	240 (375)	462		
3	270 (410)	349.5 (>600)		

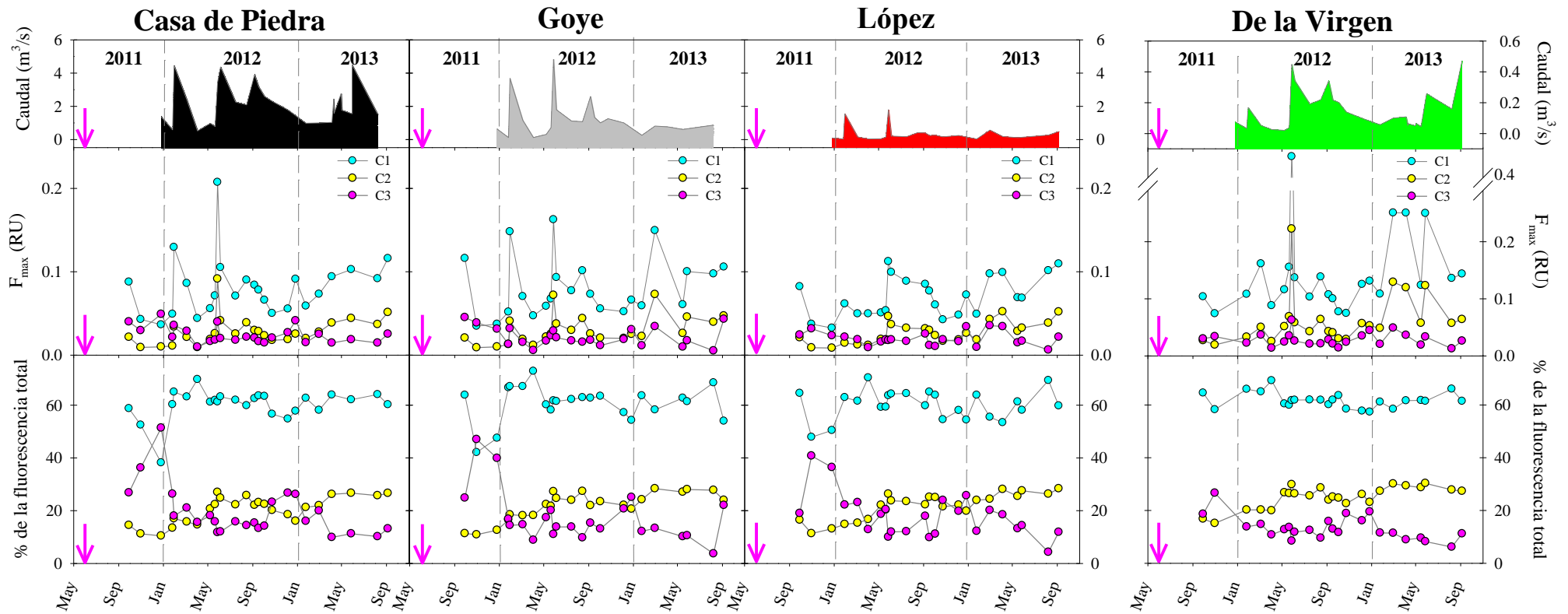


Figura I.13. Caudal de los arroyos (panel superior), fluorescencia máxima (F_{\max}) de los componentes C1, C2 y C3 (panel central), y contribución porcentual de los tres componentes a la fluorescencia total (panel inferior) en cuatro arroyos andino-patagónicos. La flecha indica la erupción del complejo volcánico Puyehue-Cordón Caulle el 4 de junio del 2011.

En la relación entre el COD y la Em_{370} , la intersección en el eje X es indicadora de la fracción de MOD no fluorescente (MODnF) (**Fig. I.14**). En los cuatro arroyos, la fracción de MODnF fue nula (**Tabla I.6**), lo cual indicaría que los parámetros de fluorescencia son buenos indicadores del COD en estos arroyos. Sin embargo, dado que la MODC incluye a la MODF (**Fig. M.1**) y, siendo ambas estimaciones independientes, resulta llamativo que el porcentaje de MODnF sea nulo. Esto podría deberse a que tanto el porcentaje de MODnF y el MODnF se estiman mediante modelos de regresión, que si bien resultaron altamente significativos, no explican el 100% de la variabilidad de los datos.

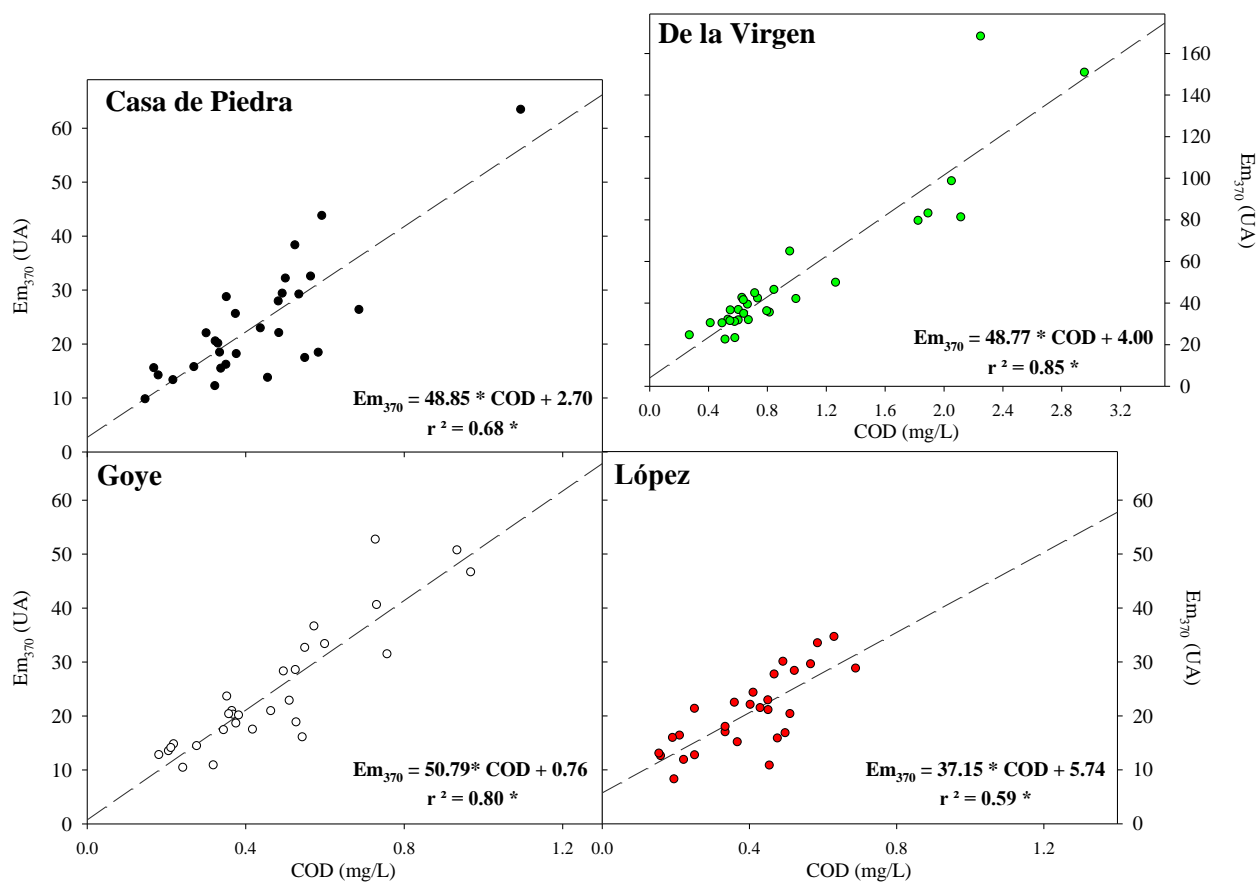


Figura I.14. Relación entre la concentración de COD y la Em_{370} en cuatro arroyos andino-patagónicos (r^2 = coeficiente de regresión; * = $p < 0.001$). Nótese la intersección negativa en el eje de la X en todos los casos.

Tabla I.6. Relación entre la concentración de COD y la Em₃₇₀. La intersección en el eje X se utilizó para estimar el % de MODnF para los valores promedio de COD de cada arroyo. Una intersección negativa en el eje de las X indica que toda la MOD es fluorescente (Spencer et al., 2008; 2012) (r^2 = coeficiente de regresión; * = $p < 0.001$).

	Casa de Piedra	Goye	López	De la Virgen
r^2	0.68	0.80	0.59	0.85
F	56.92 *	110.51 *	37.92 *	164.98 *
Intersección eje X (mg/L)	-0.06	-0.01	-0.15	-0.08
COD promedio (mg/L)	0.427	0.467	0.396	0.972
% MOD no cromofórica	0	0	0	0

La relación entre la MODC y la MODF resultó altamente significativa. El incremento del MODC se traduce en un incremento directo de MODF (**Fig. I.15**).

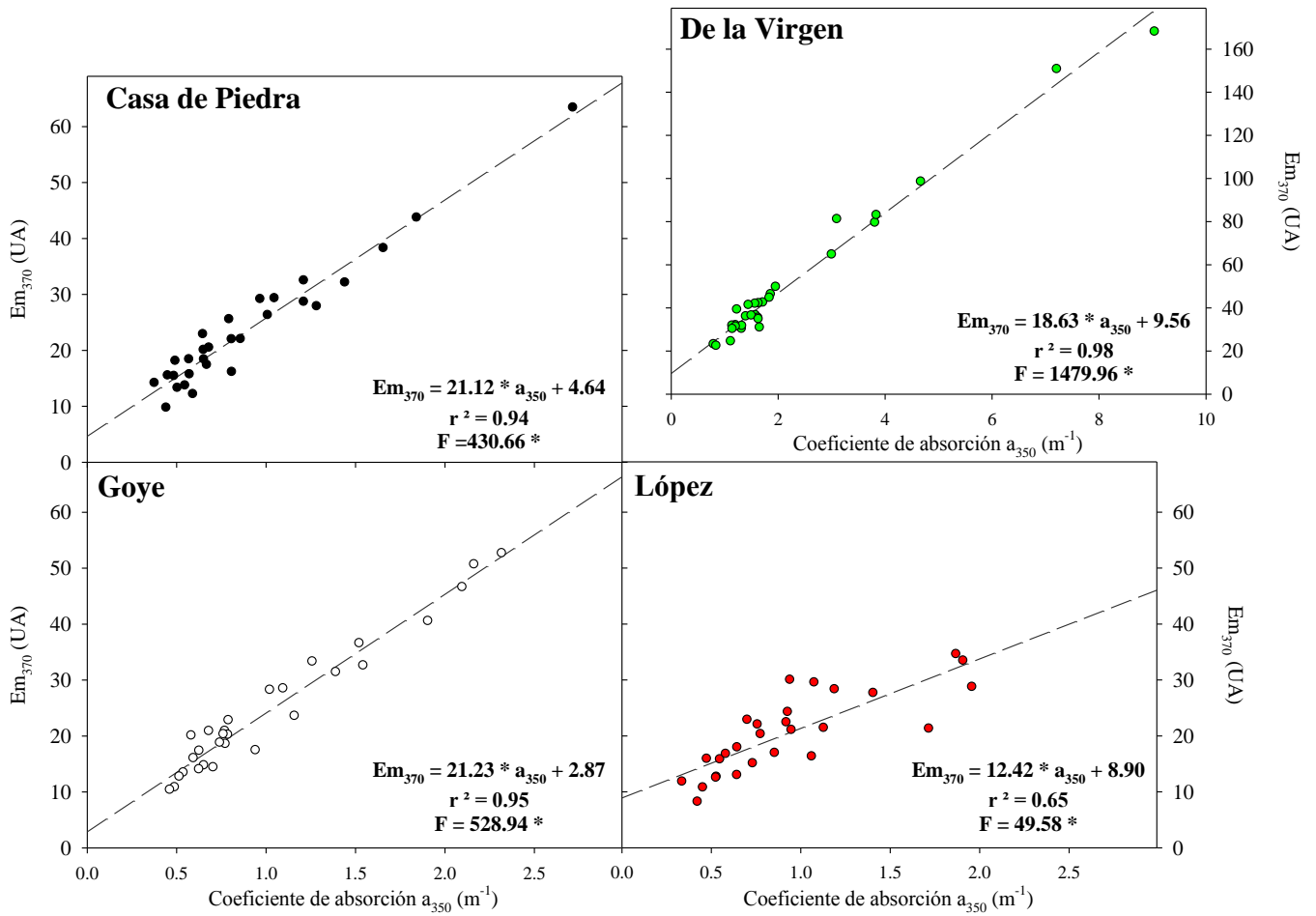


Figura I.15. Relación entre el coeficiente de absorción a_{350} y la intensidad Em_{370} en los cuatro arroyos andino-patagónicos (r^2 = coeficiente de regresión; * = $p < 0.001$).

Tabla I.7. Resultados de los análisis de correlación aplicado para estudiar la relación entre la precipitación (Prec), el carbono orgánico disuelto (COD), los coeficientes de absorción (a_{254} , a_{350} y a_{440}), los componentes fluorescentes detectados por el análisis PARAFAC (C1, C2 y C3) y la clorofila a (Cl *a*) en cuatro arroyos de andino-patagónicos (Prueba de correlación de Pearson; * = $p < 0.05$; ** = $p < 0.001$; † = $p > 0.05$; $n = 21-30$).

Variables	A° Casa de Piedra	A° Goye	A° López	A° De la Virgen
Prec-C1	0.856**	0.789**	0.530**	0.897**
Prec-C2	0.842**	0.737**	0.524**	0.879**
Prec-C3	0.338†	0.420*	0.191†	0.685**
COD-C1	0.811**	0.896**	0.694**	0.958**
COD-C2	0.810**	0.898**	0.689**	0.954**
COD-C3	0.140†	0.266†	0.279†	0.707**
a₂₅₄-C1	0.958**	0.973**	0.827**	0.985**
a₂₅₄-C2	0.871**	0.829**	0.733*	0.955**
a₂₅₄-C3	0.370†	0.421*	0.286†	0.764**
a₃₅₀-C1	0.944**	0.961**	0.707**	0.977**
a₃₅₀-C2	0.854**	0.820**	0.595*	0.946**
a₃₅₀-C3	0.360†	0.414*	0.244†	0.764**
a₄₄₀-C1	0.831**	0.834**	0.584**	0.934**
a₄₄₀-C2	0.748**	0.693**	0.488*	0.903**
a₄₄₀-C3	0.222†	0.333*	0.118†	0.730**
C1-C2	0.945**	0.888**	0.929**	0.987**
C1-C3	0.280†	0.382†	0.143†	0.770**
C2-C3	0.127†	0.227†	0.185†	0.739**
C3-Cl <i>a</i>	-0.203†	0.173†	-0.063†	0.009†

I.4.4 Análisis de Componentes Principales (PCA)

Las dos primeras componentes (PC1 y PC2) obtenidas a partir del análisis de componentes principales (PCA) explicaron un 75% de la varianza total. La primera componente (PC1) explicó 55% de la varianza mientras que la segunda componente (PC2) explicó 20%. PC1 se correlacionó de manera positiva con los fluoróforos C1 ($r = 0.92$), C2 ($r = 0.88$), C3 ($r = 0.60$),

el COD ($r = 0.87$), el NT ($r = 0.82$), el PT ($r = 0.72$) y la precipitación ($r = 0.74$) (**Fig. I.16**), mientras que la PC2 se correlacionó negativamente con la conductividad ($r = -0.82$). La precipitación fue el factor que explicó la mayor parte de la variabilidad del primer eje, mientras que la conductividad explicó la mayor parte de la variabilidad del segundo eje (**Fig. I.16**). La mayoría de las fechas de muestreo que presentaron precipitaciones superiores a 5 mm/día se encuentran en el lado derecho del eje vertical y pueden caracterizarse, en comparación con otras fechas, por una mayor concentración de COD, de nutrientes y de los componentes C1, C2 y C3. Estos resultados muestran que las precipitaciones regulan los nutrientes y el COD en estos arroyos. Por otra parte, dado que los tres componentes de la MOD hallados presentan un patrón de correlación similar y alta correlación con el PC1, se puede inferir que poseen el mismo origen.

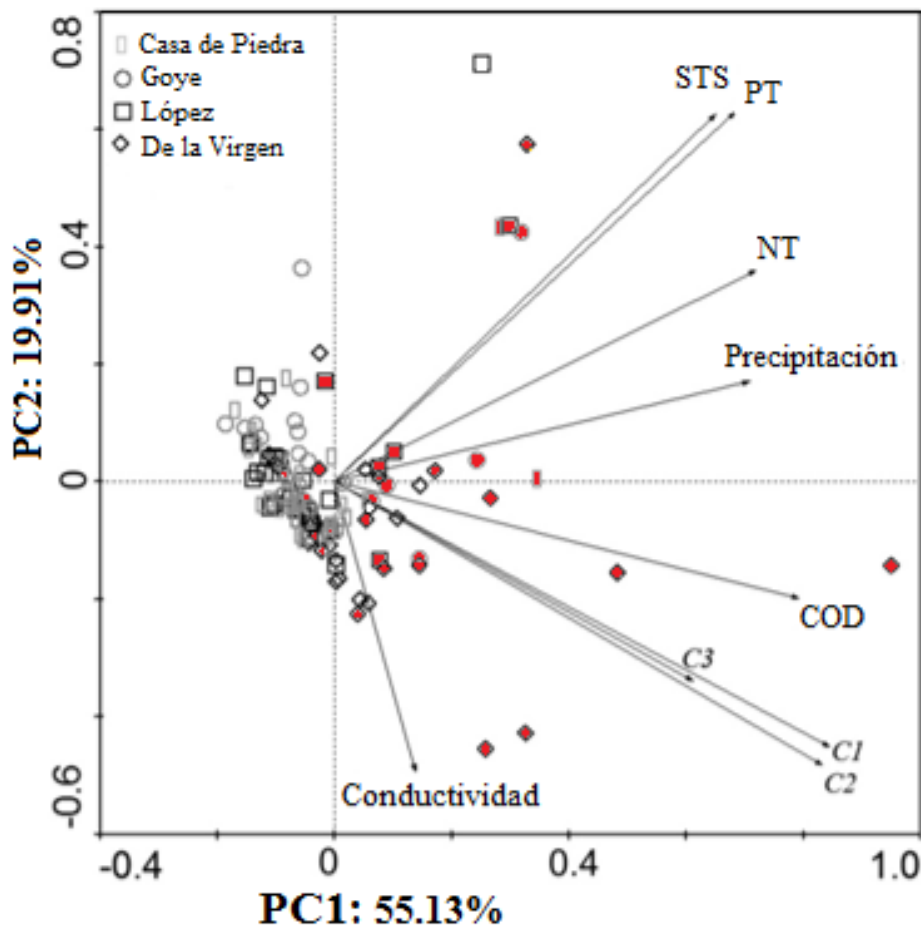


Figura I.16. Análisis de Componentes Principales (PCA). Variables incluidas en el PCA: precipitación del área de estudio, conductividad, sólidos totales en suspensión (STS), concentración de carbono orgánico disuelto (COD), concentración de fósforo total (PT),

concentración de nitrógeno total (NT) e intensidades de los tres componentes fluorescentes de la MOD (C1, C2 y C3) de los cuatro arroyos andino-patagónicos estudiados. Los puntos en rojo indican valores de precipitación superior a 5 mm/día (durante el día de la colecta de muestras).

I.5 DISCUSIÓN

La cuenca de estudio está compuesta por una red fluvial que se origina en lagos de altura, arroyos transitorios o directamente en el paquete néveo y que discurre por pendientes elevadas a través de suelos rocosos por encima de la línea de vegetación. Pendiente abajo, los arroyos atraviesan zonas densamente forestadas por bosques caducifolios de lenga y luego por bosques perennes dominados por coihues y cipreses a nivel del pie de monte. Los lagos Moreno Este y Oeste, receptores del drenaje de esta cuenca poseen características limnológicas únicas que resultan de la combinación de concentraciones extremadamente bajas de carbono orgánico disuelto y nutrientes, y niveles elevados de radiación solar. En conjunto estos factores establecen las condiciones para el desarrollo de comunidades acuáticas únicas y altamente endémicas (Morris et al., 1995; Queimaliños et al., 2012; y referencias en este último trabajo). La dinámica del COD en estos dos lagos, posee pulsos de calidad y concentración de COD característicos, que se atribuyeron el ingreso alóctono (Queimaliños et al., 2012).

Los resultados presentados en este capítulo confirman las hipótesis y las predicciones acerca del rol regulador de las precipitaciones en la transferencia de materiales alóctonos. En tal sentido, el flujo de materiales desde la cuenca hacia los arroyos analizados y los lagos Moreno Este y Oeste, incluyendo a la MOD como fuente de C, es de magnitud considerable y se comporta estacionalmente dependiendo de las precipitaciones y del deshielo. En el caso de la MOD estos aportes presentan características particulares y discernibles a través de análisis de espectroscopía óptica y de fluorescencia. En general, en la Patagonia andina las biozonas en las cuencas están delimitadas por patrones de precipitación y de temperatura fuertemente estacionales (Paruelo et al., 1998 a y b). Los resultados obtenidos en este trabajo indican que también la dinámica de interacción cuenca-cuerpos de agua está determinada por factores climáticos, fundamentalmente el régimen de precipitación, regulador de la escorrentía y del caudal de los cuerpos de agua de las cabeceras de cuenca.

Los datos recabados en esta tesis provienen de muestreos mensuales durante un período de dos años y proporcionan nueva evidencia sobre concentraciones basales de nutrientes y MOD

de los arroyos andino-patagónicos, su dinámica estacional tanto en términos de calidad como así también de los factores climáticos que regulan su ingreso. En un contexto global, estos arroyos presentan los niveles más bajos de nutrientes y MOD reportados para ambientes lóticos oligotróficos (Dodds et al., 1998). Durante el período de estudio, los arroyos Casa de Piedra, Goye y López se comportaron de manera similar en términos hidrológicos y físico-químicos, presentando valores muy bajos de conductividad, nutrientes, COD y clorofila *a* epilítica. En particular, el A° De la Virgen presentó valores comparativamente mayores de nutrientes, COD, conductividad y STS (**Figs. I.6 y I.8; Tabla I.1**), lo que refleja la influencia de su subcuenca que, a diferencia de las subcuencas del resto de los arroyos, posee una cobertura vegetal casi total dominada por especies de *Nothofagus* (coihue y lenga). Desde su nacimiento hasta su desembocadura, el arroyo recibe materiales provenientes de una cobertura vegetal densa y suelos más desarrollados en toda la extensión de la subcuenca. Asimismo, el arroyo discurre por pendientes elevadas que favorecerían el lavado superficial de materiales. Esto unido a un caudal pequeño en comparación con los otros tres arroyos explicaría la mayor concentración de solutos en el sistema. Sin embargo, en un marco ambiental más general, los valores de MOD y nutrientes registrados en el A° De la Virgen son bajos y también característicos de cuencas oligotróficas (Dodds et al., 1998). El caudal de los cuatro arroyos reflejó el régimen de precipitaciones local a lo largo de todo el año (**Figs. I.7**), observándose sincronía entre las precipitaciones y el ingreso de MOD alóctona y nutrientes, y evidenciándose el rol fundamental que cumplen las lluvias en el intercambio de materiales dentro de la cuenca (**Fig. I.8**). Los sólidos totales en suspensión, los nutrientes y el carbono orgánico disuelto exhibieron una respuesta rápida a los cambios de caudal, presentando variaciones significativas en sus concentraciones. En este sentido, los niveles mayores de estas variables se hallaron durante el primer evento de precipitación en cada temporada. Esta condición se ha observado en diversos sistemas lóticos, particularmente en ambientes de cabecera que drenan cuencas forestadas (Raymond y Saiers, 2010; Xu y Saiers 2010; Xu et al., 2012). En el caso de la MOD, se ha observado que responde directamente a los eventos de lluvia y deshielo, cuyos efectos pueden incrementar varias veces su concentración.

El patrón de caudal registrado en los cuatro arroyos es claramente de tipo bimodal, con mayores niveles de agua en el otoño-invierno debido al aumento de las precipitaciones, y durante la primavera producto del derretimiento de la nieve de las altas cumbres. Este patrón se ha

descripto para otros arroyos de montaña del norte patagónico (Albariño et al., 2009; Díaz Villanueva et al., 2010; Modenutti et al., 2010).

La erupción volcánica ocurrida el 4 de junio del 2011 depositó material grueso y fino sobre la cuenca de estudio, lo que afectó los ecosistemas terrestres y acuáticos del PNNH (Modenutti et al., 2013; Chaneton et al., 2014; Daga et al., 2014). El impacto de la ceniza depositada fue particularmente dramático en el límite occidental del parque, adyacente al complejo volcánico PCC. Las zonas situadas en latitudes ligeramente superiores (al sur del lago Nahuel Huapi) recibieron pequeñas cantidades de ceniza (Chaneton et al., 2014), como fue el caso de la cuenca del complejo lago Moreno. La ceniza cubrió la hojarasca otoñal recientemente producida por los *Nothofagus*, produciendo un aislamiento de los suelos. Esta tesis comprende muestreos en fechas previas (15 días antes) y posteriores (15 días después) de la erupción del PCC. El muestreo post erupción estuvo influenciado por las lluvias torrenciales que acompañaron a la erupción (**Fig. I.5**). Los datos obtenidos no mostraron cambios notables en la turbidez, conductividad, STS, pH, concentración de nutrientes y COD atribuibles a la erupción del volcán (**Fig. I.8**). La periodicidad aplicada en los muestreos de este estudio no captó el ingreso de este material que se transfirió rápidamente hacia los lagos dada la elevada pendiente y velocidad del agua de estos arroyos. La lectura de nuestros resultados sugiere que el ingreso del material volcánico en los arroyos produjo efectos similares y/o indistinguibles de los efectos producidos por las precipitaciones, al menos en las fechas en las que se realizaron los trabajos de campo de esta tesis. Por el contrario en los lagos pedemontados del PNNH, receptores de la cuenca y con mayor tiempo de residencia del agua, se observó un aumento de los sólidos en suspensión, de la concentración de fósforo, de la biomasa de fitoplancton y una atenuación de la penetración de la luz debido al ingreso y a la acumulación de material volcánico (Modenutti et al., 2013; Balseiro et al., 2014). A diferencia de los arroyos estudiados en esta tesis, los cuales se ubican a ~100 km en línea recta del complejo PCC, los arroyos situados en cercanías al complejo volcánico PCC (~30 km), recibieron gran cantidad de material volcánico grueso y fino que produjo estancamientos y un aumento pronunciado de la turbidez del agua (Lallement et al., 2014). La cantidad y el tamaño de la ceniza volcánica disminuyó con la distancia al complejo volcánico PCC, observándose diferencias marcadas en la cantidad y en la calidad de material volcánico depositado a lo largo de un gradiente sureste (Bermúdez y Delpino, 2011; Chaneton et al., 2014). Debido a esto, el impacto de la erupción del PCC en la cuenca del complejo lacustre Moreno fue

bajo en comparación con el que sufrieron los sistemas ubicados en el límite occidental del PNNH. Si bien la erupción del PCC afectó una gran área de norte patagónico, incluyendo cuencas boscosas y numerosos sistemas acuáticos, la magnitud del impacto no resulta comparable con los efectos devastadores generados por otros volcanes del mundo. Por ejemplo, la erupción del monte St. Helens en el año 1980 produjo la deposición de material piroclástico y el desmoronamiento de la cara norte del volcán que causó una avalancha masiva de escombros sobre el lago Spirit, produciendo el surgimiento del hipolimnion. La concentración de constituyentes orgánicos disueltos aumentó en el lago Spirit debido al ingreso masivo de material forestal, a la disolución de material piroclástico, de barro y de ceniza (McKnight et al., 1988).

En general, los cuerpos de agua de cabecera reciben materiales alóctonos, caracterizados por la dominancia de MOD cromofórica (Spencer et al., 2008; 2012). En los arroyos estudiados, la MODC fue predominante presentando un porcentaje mayor al 93%, mientras que la fracción de la MODnC representó menos del 7% del COD. La MODnF podría haber sido subestimada dado que su estimación se realizó con un modelo de regresión que si bien resultó altamente significativo, no explica el 100% de la variabilidad. Por lo tanto, los valores de MODnF estimados como nulos mediante el modelo deberían ser tomados con cautela ya que probablemente señalen valores bajos de esta fracción de la MOD.

La fuerte correlación positiva hallada entre la MODC y la MODF, parámetros ópticos obtenidos independientemente, indican que estos estimadores son precisos y complementarios para la caracterización de la MOD. De esta forma, los métodos espectroscópicos permiten describir con alto grado de precisión a la fracción mayoritaria de la MOD y son particularmente apropiados para el estudio de aguas en las que predomina la MOD cromofórica y fluorescente, como es el caso de los arroyos analizados en esta tesis.

Los análisis de las fracciones cromofórica y fluorescente de la MOD de los arroyos a lo largo del tiempo revelaron patrones interesantes. Por ejemplo, los coeficientes de absorción a_{254} (aromaticidad de la MOD), a_{350} (concentración de lignina) y a_{440} (coloración del agua) se relacionaron directamente con la concentración de COD en todos los arroyos (**Fig. I.9**), lo cual resulta indicativo del origen terrestre de la MOD. Las correlaciones positivas y significativas entre la MODC y la concentración de COD son típicas de ambientes en los que predomina una sola fuente de MOD influenciada por fenómenos de dilución y/o la mezcla conservativa (Del Vecchio y Blough 2004; Jiang et al., 2012; Spencer et al., 2012). Asimismo, los valores bajos de

S_R obtenidos en los arroyos durante los eventos de precipitación, señalan la entrada del MOD de alto peso molecular y aromaticidad, características del material terrestre (Helms et al., 2008; Spencer et al., 2010; Osburn et al., 2011) con bajo nivel de procesamiento microbiano en los suelos. Cabe mencionar que los valores promedios de S_R obtenidos en esta tesis son similares a los valores hallados en ríos del Ártico en períodos de máxima descarga y también en ríos tropicales de aguas negras al inicio de la temporada de lluvias, cuando reciben entradas alóctonas sustanciales (Spencer et al., 2009, 2010; Stedmon et al., 2011a). La relación entre los coeficientes de absorción y el COD observada durante el desarrollo de esta investigación se encuentra en el extremo inferior de los ambientes estudiados por Spencer et al. (2009, 2012), debido a la concentración de COD extremadamente baja de los arroyos andinos (< 2 mg/L, con un rango medio de 0.15-1 mg/L). Sin embargo, aún a estos niveles extremadamente bajos de COD, las técnicas espectroscópicas de absorbancia y de fluorescencia resultaron sensibles como para detectar no sólo los cambios en las concentraciones de la MOD sino también en su calidad. De hecho, las entradas de MOD alóctona durante eventos de precipitación se hicieron evidentes a través de los cambios en los valores de los coeficientes de absorción. Si se utiliza la relación entre el $S_{275-295}$ vs. a_{350}/COD (Fichot y Benner, 2012) para situar los arroyos andinos en un contexto ambiental más amplio, puede observarse que los arroyos estudiados están en un rango de MOD con alto peso molecular pero con contenido de lignina variable (**Fig. I.10**). Los valores bajos de $S_{275-295}$ observados reflejan la influencia de los aportes de la cuenca, aún no transformados por los procesos foto-químicos. En los arroyos de primer orden que atraviesan paisajes escarpados de la región, como los sistemas estudiados, la hojarasca se transporta rápidamente aguas abajo. El tiempo de residencia del material dentro de los arroyos resultaría breve (Albariño et al., 2009) y probablemente no permita que la lixiviación y la degradación físico-química y biológica se complete en el sistema, con efectos sobre la concentración y la calidad de la MOD (Jaffé et al., 2008).

En sistemas con fuentes de MOD únicas o dominantes, como los arroyos de la Patagonia andina, se puede establecer una relación directa entre la concentración de COD y MODF (Del Vecchio y Blough, 2004; Catalán et al., 2014). Al analizar la información obtenida de la MODF a través de las EEMs en un contexto general mediante la aplicación del PARAFAC, se observa en los cuatro arroyos y a lo largo de todo del año la presencia de dos componentes tipo húmicos (C1 y C2) y uno tipo proteico (C3). El C1 fue el componente dominante (es decir, el componente que

presenta la mayor intensidad de fluorescencia), seguido por el C2. Las intensidades de ambos componentes húmicos se correlacionaron positivamente como así también con las precipitaciones, con el COD, con la aromaticidad, con el contenido de lignina y con el color de la MOD (**Fig. I.13; Tabla I.7**). La fluorescencia en las regiones del C1 y C2 son referidas a menudo como picos húmicos, específicamente los picos A, M y C (Coble, 2007). El pico M en C1 ha sido catalogado como un componente de bajo peso molecular, y se ha relacionado con el procesamiento microbiano (Hur et al., 2009). Esto sugiere que la MOD transportada a los arroyos desde la cuenca ha sido procesada por los microorganismos del suelo (Hur et al., 2009; Fellman et al., 2010; Ishii y Boyer, 2012). Los picos A (presente en C1 y C2) y C (C2) se han catalogado previamente como componentes de tipo húmico y de origen terrestre (Ishii y Boyer, 2012), pero con una naturaleza química aromática y de alto peso molecular en comparación con el pico M del C1 (Coble, 2007; Fellman et al., 2010). Por otra parte, los valores altos del HIX (~0.9; **Fig. I.12**) registrados durante todo el año en los cuatro arroyos también indican que la MOD posee un grado alto de humificación (Ohno, 2002; Huguet et al., 2009). El C3 resultaría de la combinación de dos fluoróforos no separables por el análisis de PARAFAC, uno de los cuales se asemeja a proteínas y el otro a pigmentos (**Tabla I.5**). La naturaleza proteica del C3 se deduce también a través del patrón de Excitación/Emisión atribuible al pico T (compuestos que fluorescen de manera semejante al triptófano), aunque este patrón ha sido obtenido en presencia de moléculas no proteicas como, por ejemplo, compuestos fenólicos, precursores importantes de las sustancias húmicas (Maie et al., 2007). La presencia de otro fluoróforo en el C3 puede inferirse por un segundo máximo de excitación a 410 nm (**Tabla I.5**), el cual estaría relacionado con un pico de emisión más allá de los 600 nm, como se ha observado en fluoróforos asociados a pigmentos (Coble et al., 1998; Coble, 2007). Desafortunadamente, el rango de emisión de la EEM aplicada en este estudio (hasta 600 nm), no permitió detectar el máximo de emisión correspondiente a ese fluoróforo. Sin embargo, su máximo de excitación se corresponde con la fluorescencia típica de pigmentos. La intensidad del C3 fue proporcionalmente menor que la del C1 y del C2 durante todo el año pero evidenció incrementos durante los períodos de primavera en todos los arroyos (**Fig. I.13**). La presencia del C3 reflejaría el resultado de la lixiviación activa de la hojarasca en los suelos durante la primavera y su posterior transporte hacia los arroyos por el deshielo progresivo, como ha sido observado en sistemas del hemisferio norte (Agren et al., 2008). La contribución de lixiviados de hojarasca reciente ha sido evidenciada a través de la presencia de

fluoróforos de tipo proteicos y/o fenólicos (C3 en los arroyos estudiados) (Maie et al., 2007; Hur et al., 2009), habiéndose asociado a compuestos de degradación de la clorofila, posiblemente feopigmentos (Coble et al., 1998; Coble, 2007). Si bien el componente proteico podría derivar de la producción primaria (Coble, 1996; Bastidas Navarro et al., 2014), en este trabajo fue independiente de la concentración de clorofila *a* perifítica.

En períodos comprendidos entre eventos de lluvias, la temperatura influye en la producción y en la descomposición de la materia orgánica potencialmente móvil mediante el control de la actividad microbiana (Andersson et al., 2000; Xu y Saiers, 2010). Por lo tanto, los cambios en la calidad de la MOD durante la primavera podrían atribuirse a la reactivación de los procesos de descomposición microbiana en los suelos, aumentando así la degradación de material vegetal cuya fluorescencia es similar a los componentes proteicos y/o fenólicos (Maie et al., 2007). Asimismo, los cambios en la calidad de la MOD observados durante la primavera reflejarían diferentes niveles de descomposición y/o transformación microbiana. En este sentido, Hur et al. (2009) observaron en incubaciones experimentales de hojarasca con su microbiota asociada una disminución en el máximo del pico proteico (comparable con el C3 hallado en este trabajo), mientras que los máximos fúlvicos (comparable con el C1) y húmicos (atribuible al C2) fueron más intensos después de la incubación. El incremento de la intensidad del C3 después de la erupción volcánica (primavera del 2011) coincidió con el registro de valores altos de BIX (MOD recientemente producida por actividad de la microbiota), debido probablemente a la presencia de grandes cantidades de hojarasca en los suelos, producto de la defoliación del bosque circundante por la caída de ceniza (Chaneton et al., 2014). La actividad de los microorganismos sobre esta cantidad excepcional de hojarasca en el suelo podría ser la causa del aumento en la intensidad del C3 registrado en los arroyos. Cabe mencionar que el material volcánico no sólo impactó la vegetación y la producción estacional de hojarasca en las cuencas regionales, Elser et al. (2015) también observó cambios profundos en los ensamblajes microbianos acuáticos debidos a la presencia de ceniza volcánica. Las comunidades microbianas tanto terrestres como acuáticas actúan en la transformación de la materia orgánica y por lo tanto las disrupciones en los ensamblajes naturales producirían cambios en el procesamiento y en la degradación microbiana que se reflejarían en la calidad de la MOD. La disrupción y/o aislamiento de la comunidad microbiana del suelo a consecuencia de la deposición de material volcánico, podría haber retrasado la transformación microbiana de los materiales proteicos y/o fenólicos (C3) en ácidos

fúlvicos y húmicos en los suelos, reflejándose como una contribución excepcional de C3, no así de C1 y C2, como se observó en la primavera-verano de 2011.

Este estudio, muestra que los cuatro arroyos patagónicos analizados vehiculizan MOD desde la cuenca hacia el complejo lacustre Moreno. La hojarasca de *Nothofagus caducifolios* (*N. pumilio*) y perennes (*N. dombeyi*) que dominan la cobertura vegetal del área, y los suelos de la cuenca son la principal fuente de materia orgánica que reciben los cuatro arroyos. Durante el otoño, las precipitaciones barren materiales de la cuenca generando pulsos de partículas, nutrientes y MOD de carácter húmico hacia los arroyos. Durante la primavera, el deshielo colecta una mezcla de sustancias húmicas, proteicas/fenólicas y compuestos tipo pigmentos provenientes de los lixiviados de hojarasca y de los productos generados por el aumento de la actividad microbiana.

Los arroyos estudiados actuarían principalmente como canales de transporte de los materiales disueltos desde la cuenca hacia los lagos. Sus pendientes elevadas, recorridos cortos y breve tiempo de retención del agua favorecerían la exportación rápida de los materiales aguas abajo. Además, la temperatura típicamente baja unida al escaso tiempo de retención del agua en los arroyos, no facilitaría el procesamiento de la MOD dentro el sistema, que entonces la vehicularía como “materia prima”, incorporándose, transformándose y utilizándose aguas abajo en las cadenas tróficas de los lagos receptores (Queimaliños et al., 2012).

El papel central de las precipitaciones en el intercambio de materiales dentro de la cuenca revela la vulnerabilidad de estos sistemas acuáticos a las fluctuaciones climáticas. El norte de la Patagonia experimenta cambios en los patrones de precipitación y de temperatura. Particularmente, se observan fluctuaciones en la frecuencia e intensidad de las lluvias con efectos directos sobre los ciclos hidrológicos (Marengo et al., 2009; IPCC, 2014). El aumento sostenido de la temperatura en la región es la principal causa de la alarmante retracción de los hielos continentales (Masiokas et al., 2008; IPCC, 2014). Los patrones de precipitación y de temperatura afectan profundamente la producción, el procesamiento de la MOD en los sistemas terrestres y acuáticos, y por ende la dinámica de su concentración y su calidad (Häder et al., 2007; Larsen et al., 2011; Sadro y Melack, 2012; Williamson et al., 2014). Asimismo, las sequías pronunciadas frecuentes en la última década (Villalba et al., 2012) comprometerían la cantidad y calidad de las materiales que se exportan desde la cuenca a la red fluvial. En los arroyos estudiados, la MOD posee un fuerte componente terrestre y su dinámica depende de las

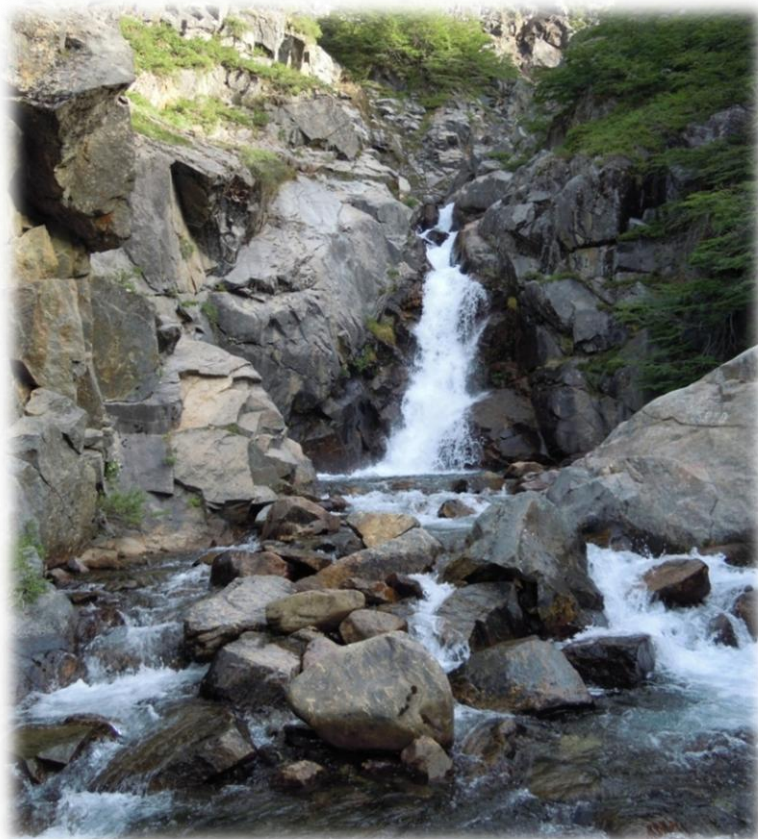
precipitaciones que vehiculizan los materiales alóctonos hacia la red de drenaje. La disminución de las precipitaciones generaría un cambio en el nivel de conectividad cuenca-red de drenaje que implicaría un menor aporte de materiales terrestres a los arroyos y en última instancia a los lagos. Se podría especular que a menor nivel de precipitación la cuenca retendría la MO en el suelo, la cual estaría disponible para la degradación en ese compartimento terrestre. Las lluvias arrastrarían materiales degradados desde los suelos, los cuales probablemente posean parámetros de calidad particulares.

Por otra parte, en la región Patagónica los niveles elevados de radiación solar incidente, particularmente de la fracción UV, también crean condiciones que se sinergizan con factores como p.e. la temperatura, que afectan a diversas escalas de complejidad (organismos, tramas tróficas, sistemas) tanto del ambiente terrestre como del medio acuático y cuya acción depende del tiempo de retención de los materiales en el sistema (Díaz et al., 2006; Häder et al., 2007, 2011; Marinone et al., 2006). En este sentido, estas variables afectan fuertemente los procesos de degradación físicos (fotodegradación) y biológicos (biodegradación) (Osburn et al., 2001; Zagarese et al., 2001; Pérez et al., 2003; Bastidas y Modenutti, 2012).

Los resultados obtenidos en esta tesis proporcionan evidencia novel acerca de la importancia y características del transporte de materiales desde una cuenca con bosque nativo con bajo impacto antrópico hacia la red fluvial del complejo lacustre Moreno, con evidencias complementarias y convergentes resultantes de análisis de la MOD. Los resultados obtenidos mediante las técnicas de espectroscopía de absorbancia y de fluorescencia indican que estas herramientas de alta resolución son eficientes para el análisis de las aguas de sistemas ultraoligotróficos como los arroyos de montaña estudiados, permitiendo evidenciar diferentes aspectos de la MOD como su origen, los procesos que influyen en la fluctuación estacional de su concentración y su estado diagenético. Estos resultados presentan evidencia clara sobre el papel del régimen de precipitaciones como controlador de la hidrología, de la magnitud y de la calidad de las entradas alóctonas en los tributarios que drenan la cuenca. El patrón descrito podría aplicarse a otros arroyos de bajo orden de la Patagonia andina, dada la similitud de muchas cuencas en términos de su cobertura vegetal, régimen de precipitación y de temperatura fuertemente estacionales y la elevada incidencia de la radiación solar. Esta investigación provee evidencia concreta del vínculo entre ecosistemas terrestres y acuáticos en una región prístina, en la que el clima es factor determinante que opera sobre la dinámica conjunta de estos ecosistemas.

Capítulo II

DINÁMICA DE LA MOD Y LOS NUTRIENTES EN UN GRANDENTE LONGITUDINAL SOBRE EL A° CASA DE PIEDRA Y EL INGRESO A LOS LAGOS



II.1 INTRODUCCIÓN

Las redes fluviales vinculan múltiples componentes de la biosfera y transportan, procesan y transforman un gran volumen de carbono orgánico terrestre (Battin et al., 2009; Aufdenkampe et al., 2011). El carácter del aporte de C que ingresa a los sistemas fluviales está influenciado por numerosos factores como el clima, la cubierta vegetal, la historia geomorfológica y las características del suelo (Wilson y Xenopoulos, 2008; Yamashita et al., 2011; Van Gaelen et al., 2014; Mann et al., 2014). Una vez movilizado a los ambientes acuáticos, el material derivado de la vegetación y los suelos (y particularmente la MOD) se torna más reactivo (Kalbitz et al., 2005), alimentando el metabolismo de los diferentes cuerpos de agua que integran la red fluvial desde la naciente hasta los océanos (Pace et al., 2007). En la mayoría de los ecosistemas fluviales, el transporte aguas abajo de la materia orgánica disuelta (MOD) representa el flujo mayoritario de carbono orgánico (Aitkenhead-Peterson et al., 2003; Jaffé et al., 2008; Graeber et al., 2012) y determina la disponibilidad de nutrientes y elementos (Burns et al., 2003; Van Gaelen et al., 2014). En escalas de tiempo largas (años a décadas), el flujo de carbono se encuentra influenciado por el clima (p.e., cambio climático) (Mengistu et al., 2013; Creed et al., 2015) mientras que a escalas de tiempo cortas (p.e., eventos hidrológicos), el transporte desde el medio terrestre difiere en el continuo longitudinal como resultado de las diferencias en el origen de las contribuciones (Pacific et al., 2010; Huang et al., 2013; Creed et al., 2015). La cantidad y calidad del paquete de la MOD puede ser muy variable temporal y espacialmente (McClain et al., 2003; Spencer et al., 2012) y está determinada por propiedades de la cuenca como el tipo de cobertura vegetal (Larson et al., 2014), los suelos (Huang et al., 2015) y el uso de la tierra (Hosen et al., 2014). La MOD terrestre es generalmente barrida de la cuenca por las precipitaciones, generando una escorrentía rica en MOD proveniente del lavado de la vegetación en pie, del detrito y de los suelos (McLaughlin, 2012). Por lo tanto, la MOD del ambiente acuático refleja características de los suelos y de la cobertura vegetal (Jaffé et al., 2008, 2012; Chen y Jaffé, 2014).

Las condiciones locales de los arroyos varían sustancialmente dependiendo de la pendiente, el tamaño del arroyo y de su situación geográfica en la red fluvial (Vannote et al., 1980; Stackpoole et al., 2014; Creed et al., 2015). El gradiente fluvial involucra cambios graduales en sentido altitudinal, con un aumento de caudal y disminución de la velocidad del agua aguas abajo (McCabe, 2010), diversos ingresos de MOD y nutrientes cuyas características dependen de la vegetación y los suelos del gradiente (McCabe, 2010; Huang et al., 2013; Larson

et al., 2014). El gradiente altitudinal también implica cambios en la incidencia de la radiación solar, afectando los procesos fotoquímicos que ocurren en los arroyos (Lu et al., 2013; García et al., 2015a).

En general la concentración de MOD se incrementa desde las cabeceras hasta las desembocaduras (McCabe, 2010; Creed et al., 2015). La MOD es transportada y transformada en procesos internos intervenidos por factores físicos, químicos y biológicos que determinan su concentración, calidad y disponibilidad aguas abajo (Vannote et al., 1980; Creed et al., 2015). Por ejemplo, la MOD algal (autóctona) es mineralizada por la comunidad bacteriana y en gran medida escapa del sistema (Kaplan y Newbold, 2003) lo cual determina su baja movilidad aguas abajo. A diferencia, la MOD terrestre que es más recalcitrante, es transportada a grandes distancias aguas abajo resultando un paquete más conservativo de C (Fisher et al., 2004; Creed et al., 2015).

Las cuencas hidrográficas de Patagonia se caracterizan por sus redes complejas que vinculan una gran variedad de ambientes. Estas redes fluviales se originan por encima de la línea de vegetación, en pequeños lagos de montaña y arroyos transitorios alimentados por agua del deshielo de las cumbres (Daniel y Veblen, 2003; Albariño et al., 2009; García et al., 2015a). Hasta su desembocadura en los lagos pedemontanos profundos, los arroyos norpatagónicos discurren por gradientes amplios que incluyen fuertes cambios altitudinales determinantes de la temperatura, de la exposición a la radiación solar, de la composición de la vegetación y dinámica foliar, y de los tipos y desarrollo de los suelos (García et al., 2015b). La vegetación es muy variable en el gradiente altitudinal, desde eriales de altura pasando por bosque monoespecífico caducifolio achaparrado y luego desarrollado en altura, hasta el bosque mixto pedemontano (Bessera y Moretti, 1993; Paruelo et al., 1998a). La vegetación riparia aporta materia orgánica a los arroyos (Albariño et al., 2009; Albariño y Díaz Villanueva, 2006; Mariluan et al., 2015) y además regula la penetración de la luz (Albariño et al., 2009).

Estudios recientes indican que el ingreso de MOD de la cuenca en los lagos del complejo lacustre Moreno (Moreno Este y Oeste), está fuertemente asociado a las precipitaciones y si bien existe una fuerte estacionalidad en la aloctonía, la comunidad del plancton depende de los aportes de C terrestre (Queimaliños et al., 2012).

Este capítulo tiene como objetivo analizar el transporte de materia orgánica disuelta y de nutrientes a lo largo del arroyo Casa de Piedra y su aporte al lago Moreno Este, teniendo en

cuenta los cambios longitudinales en concentración y estado diagenético. El A° Casa de Piedra nace en la laguna de altura Jakob y desemboca en el Lago Moreno Este, siendo el cuerpo de agua lótico de mayor recorrido y con mayor capacidad de drenaje de la cuenca. El estudio se realizó un a través de un relevamiento estacional de las características físico-químicas, de la MOD y de los nutrientes del arroyo en diferentes puntos del gradiente altitudinal-longitudinal y en diferentes puntos de la pluma del arroyo en el Lago Moreno Este.

II.2 OBJETIVO

Caracterizar el transporte de MOD, de nutrientes y de material particulado a lo largo del gradiente longitudinal en el A° Casa de Piedra, abarcando desde su nacimiento en la laguna Jakob hasta la pluma de su desembocadura en el lago Moreno Este. Caracterizar el ingreso de MOD en las desembocaduras y plumas de los arroyos López y De la Virgen.

II.2.1 Hipótesis y predicciones

- 1- La heterogeneidad de los suelos y la vegetación en el gradiente longitudinal afecta de manera diferencial el ingreso de material a los arroyos de montaña. El arroyo Casa de Piedra reflejará estas variaciones longitudinales de la cuenca en la concentración y calidad de la MOD a lo largo de su eje longitudinal.
- 2- Los arroyos de montaña aportan materiales y nutrientes a los lagos pedemontanos variando su aporte estacionalmente. El ingreso de los arroyos Casa de Piedra, De la Virgen y López en los lagos Moreno Este y Oeste en época de aguas bajas influirá localmente en los lagos. Estos presentarán características ecotonales en términos de concentraciones de MOD y nutrientes en la desembocadura de los arroyos.

II.3 MATERIALES Y MÉTODOS

II.3.1 Sitios de muestreo

El estudio longitudinal fue realizado sobre la cuenca del arroyo Casa de Piedra, el afluente de mayor importancia dentro de la cuenca del complejo lago Moreno (Bessera y Moretti, 1993). La toma de muestras incluyó una colecta sobre la laguna Jakob, en una zona cercana a la nacimiento del arroyo y siete sitios de muestreos sobre el arroyo, a lo largo de su gradiente longitudinal y altitudinal, hasta su desembocadura en el lago Moreno Este (**Fig. II.1**). Estos sitios fueron

elegidos teniendo en cuenta los cambios en la vegetación circundante como factor importante para analizar el ingreso de MOD, así como también sitios bajo la influencia de ingresos de afluentes como p.e. el A° Rucaco (punto 4). La localización y características de los diferentes puntos de muestreo (incidencia de luz y vegetación circundante) se encuentran detalladas en la **Tabla II.1**. La colecta de muestras se realizó en seis ascensos realizados través del sendero que llega hasta las nacientes del arroyo Casa de Piedra, en la laguna Jakob, donde se sitúa el refugio General San Martín. El sendero tiene su entrada sobre la ruta provincial 79 (camino que une el arroyo Casa de Piedra con Colonia Suiza) en lo que se denomina el “Tambo Baez”. La senda sigue el curso del arroyo hasta su nacimiento (**Fig II.1**), debiéndose realizar una caminata de ~16 km con un desnivel de 800 m. Para realizar los muestreos, se ascendió hasta el refugio General San Martín y luego de pernoctar en el refugio, se emprendió el regreso con escalas en cada uno de los puntos de muestreo. La toma de muestras y las mediciones de los parámetros físico-químicos de cada uno de los puntos de muestreo fueron realizadas con la metodología descrita en la sección de materiales y métodos general. El punto 7 (desembocadura del arroyo en el lago Moreno Este), fue muestreado en el mismo día que el resto de los sitios, accediendo con un vehículo por el barrio Lago Moreno. Una vez terminado el recorrido, las muestras se transportaron al laboratorio, donde se filtró el agua conservándose a 5 °C para su medición dentro de las 24 hs. Los muestreos se realizaron durante 2011-2013 entre los meses de diciembre y abril, época en la que se encuentra abierto el acceso al sendero, pudiendo ascender de manera segura con los equipos y materiales de muestreo.

La concentración de COD de las muestras de abril del 2013 fue estimada a partir de la regresión COD vs a_{350} obtenida en el Capítulo I, debido a errores instrumentales en las mediciones realizadas con el analizador de carbono.

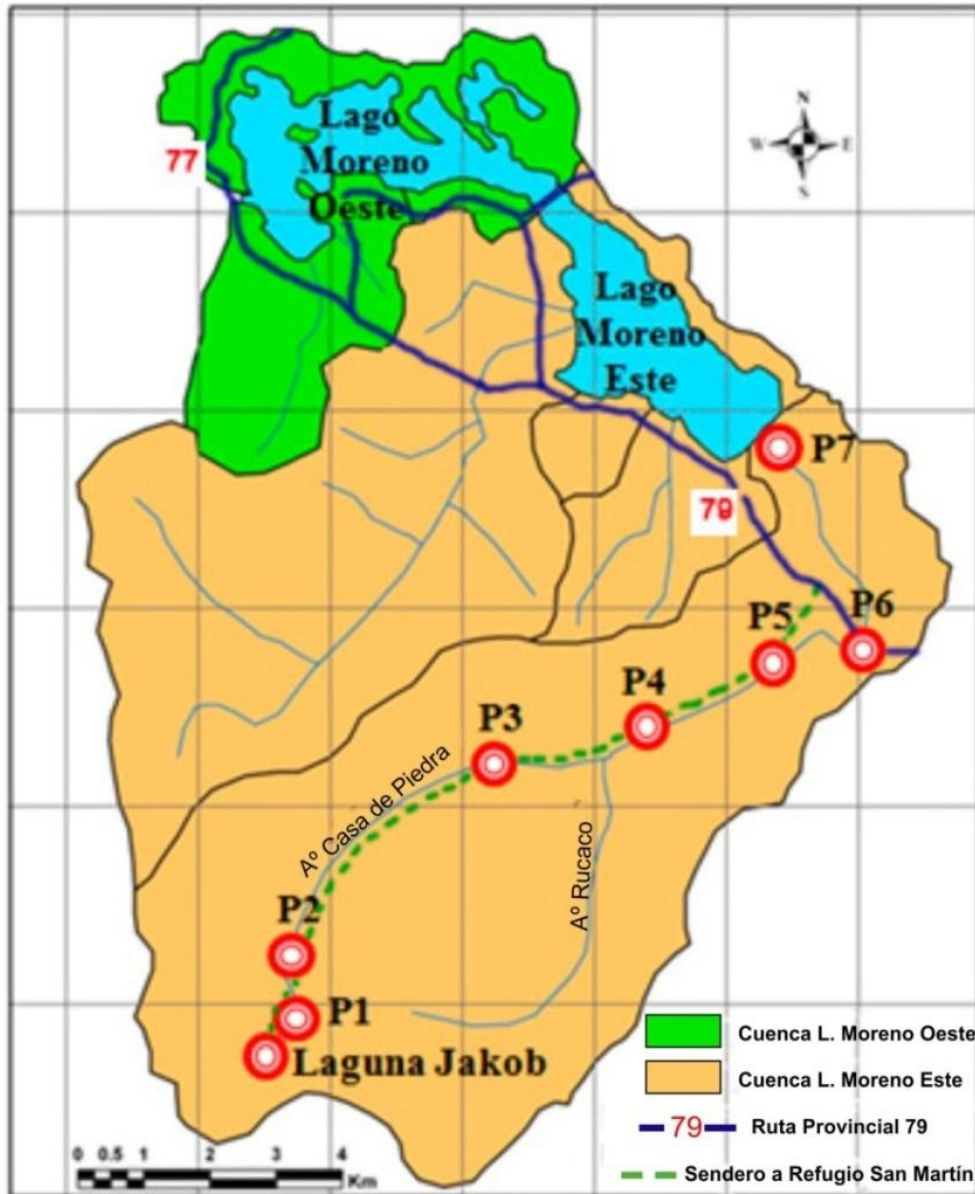


Figura II.1. Mapa de la cuenca del complejo lacustre Moreno con la localización de los puntos de muestreo sobre el arroyo Casa de Piedra.

Tabla II.1. Localización y características del área circundante a los sitios de muestreo en el gradiente longitudinal del A° Casa de Piedra. La valoración de la incidencia de la radiación solar se realizó teniendo en cuenta la vegetación riparia, que resulta determinante del grado de exposición del arroyo.

Sitio	Coordenadas geográficas	Altitud (m s.n.m.)	Curso del arroyo	Cobertura vegetal	Incidencia de la luz
Laguna Jakob	41°12'00" S 71°34'01" O	1576	-	Herbáceas Matorrales de lenga	Alta
P1	41°11'10.1" S 71°33'27.2" O	1574	Alto	Matorrales de lenga	Alta
P2	41°10'30.5" S 71°33'19.0" O	1246	Alto	Bosque alto de lenga	Baja
P3	41°08'59.2" S 71°30'42.8" O	1105	Medio	Bosque alto de lenga	Intermedia
P4	41°08'48.0" S 71°29'32.4" O	985	Medio	Bosque mixto*	Intermedia
P5	41°08'15.2" S 71°28'06.0" O	932	Medio	Bosque mixto*	Baja
P6	41°07'47.4" S 71°27'08.5" O	833	Bajo	Bosque mixto*	Baja
P7	41°06'23.0" S 71°28'14.1" O	776	Bajo	Bosque mixto*	Alta

*Bosque mixto: coihue (*Nothofagus dombeyi*) y ciprés (*Austrocedrus chilensis*)

Con el fin de caracterizar la descarga de MOD, nutrientes y STS de los arroyos en los lagos Moreno Este y Oeste, se colectaron muestras de agua en la desembocadura y dentro de las áreas de pluma de tres de los cuatro arroyos que drenan la cuenca: Casa de Piedra, De la Virgen y López, durante marzo de 2013. Se colectaron muestras de agua de los tres arroyos en sitios próximos a sus desembocaduras según la metodología tradicional expuesta en la sección de materiales y métodos generales (**Fig. II.2**). Dado que en época de aguas bajas, el A° López se infiltra completamente en el terreno antes de desembocar en el lago Moreno Oeste (~300 m), la colecta de muestras sobre el arroyo se realizó en el mismo sitio relevado en el estudio temporal presentado en el Capítulo I, distante a unos 350-400 m de la desembocadura. La colecta de agua en el área de pluma se realizó a diferentes distancias y profundidades dentro del lago, tomando como punto de referencia la desembocadura de los arroyos (**Fig. II.2**). Las distancias y profundidades variaron en función de la batimetría de cada desembocadura y zona aledaña. El

muestreo fue realizado desde un bote a motor, obteniéndose las muestras de agua mediante un muestreador tipo Kemerer.

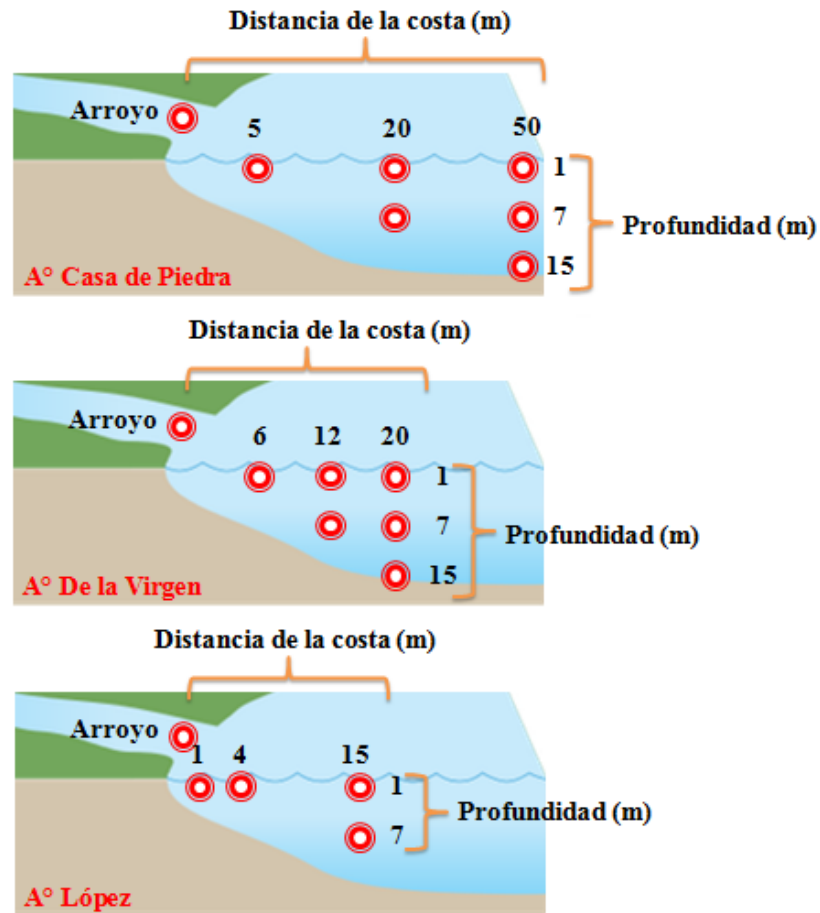


Figura II.2. Esquema de los puntos de muestreo sobre las plumas de los arroyos Casa de Piedra, De la Virgen y López.

Los muestreos a lo largo del A° Casa de Piedra y el ingreso de las plumas de los tres arroyos en los lagos se realizaron durante días soleados sin precipitaciones, con temperaturas que rondaron los 10-20 °C. Las metodologías de trabajo de campo y de laboratorio se encuentran detalladas en la sección de materiales y métodos generales.

II.3.2 Análisis de datos

Se aplicaron análisis estadísticos multivariados para determinar asociaciones entre las características descriptoras de la MOD y los valores de diferentes variables ambientales medidas en cada sitio de muestreo. Se aplicó un Análisis de Redundancia (RDA) mediante el programa

CANOCO 4.5 (ter Braak y Šmilauer, 1998), considerando diferentes propiedades de la MOD (concentración y descriptores de su calidad: coeficiente de absorción a_{350} , S_R y componentes fluorescentes). En primer lugar, se analizaron las variables en el gradiente longitudinal para evaluar la respuesta a lo largo de un eje de ordenación (apartamiento de una distribución unimodal) mediante un análisis de correspondencias (DCA) (ter Braak y Šmilauer, 1998). Dado que el valor del gradiente obtenido resultó < 4 se aplicó a continuación un Análisis de Redundancia (RDA) (ter Braak y Šmilauer, 1998), asumiendo la linearidad de las curvas de respuesta de las propiedades de la MOD en el gradiente con respecto a las variables ambientales medidas concomitantemente (altitud, conductividad y caudal). Se realizaron aleatorizaciones de Montecarlo para determinar la significancia de los ejes canónicos para las propiedades de la MOD y las variables ambientales (9.999 iteraciones entre los siete puntos de muestreo sobre el A° Casa de Piedra).

II.4 RESULTADOS

II.4.1 Dinámica espacial de los parámetros físico-químicos en el arroyo Casa de Piedra

La temperatura del A° Casa de Piedra varió entre los ~ 5 °C en la cabecera y ~ 18 °C aguas abajo. Se registró un descenso de la temperatura desde la laguna Jakob hasta el punto de muestreo 2 (P2). Luego del P3, la temperatura del agua se incrementó hasta llegar a los máximos valores, en el punto próximo a la desembocadura del arroyo (P7) (**Fig. II.3a**). El tramo entre el P3 y P7 (medio y final) presentó valores moderados de velocidad de corriente y de pendiente. Las características de la vegetación riparia en ese sector en general permiten la incidencia de la luz directamente sobre el arroyo en la mayor parte del recorrido. La conductividad del agua presentó una correlación negativa con la altitud del sitio de muestreo ($r = -0.840$, $p < 0.001$), incrementándose fuertemente desde la laguna Jakob ($14.7 \pm 1.2 \mu\text{S}$) hasta la desembocadura ($45.6 \pm 9.3 \mu\text{S}$). Los valores más bajos de conductividad se registraron en diciembre 2011, mientras que en los años siguientes (febrero, marzo y abril de 2012-2013) no se observó mayor variación entre fechas (**Fig. II.3b**). Los niveles de clorofila *a* en el epilíton fueron bajos, fluctuando entre $3\text{-}20 \text{ mg/m}^2$. Los valores más elevados siempre correspondieron al punto de muestreo cercano a la desembocadura del arroyo (P7) y al P1 (**Fig. II.3c**), ambos sitios con máxima exposición a la radiación solar.

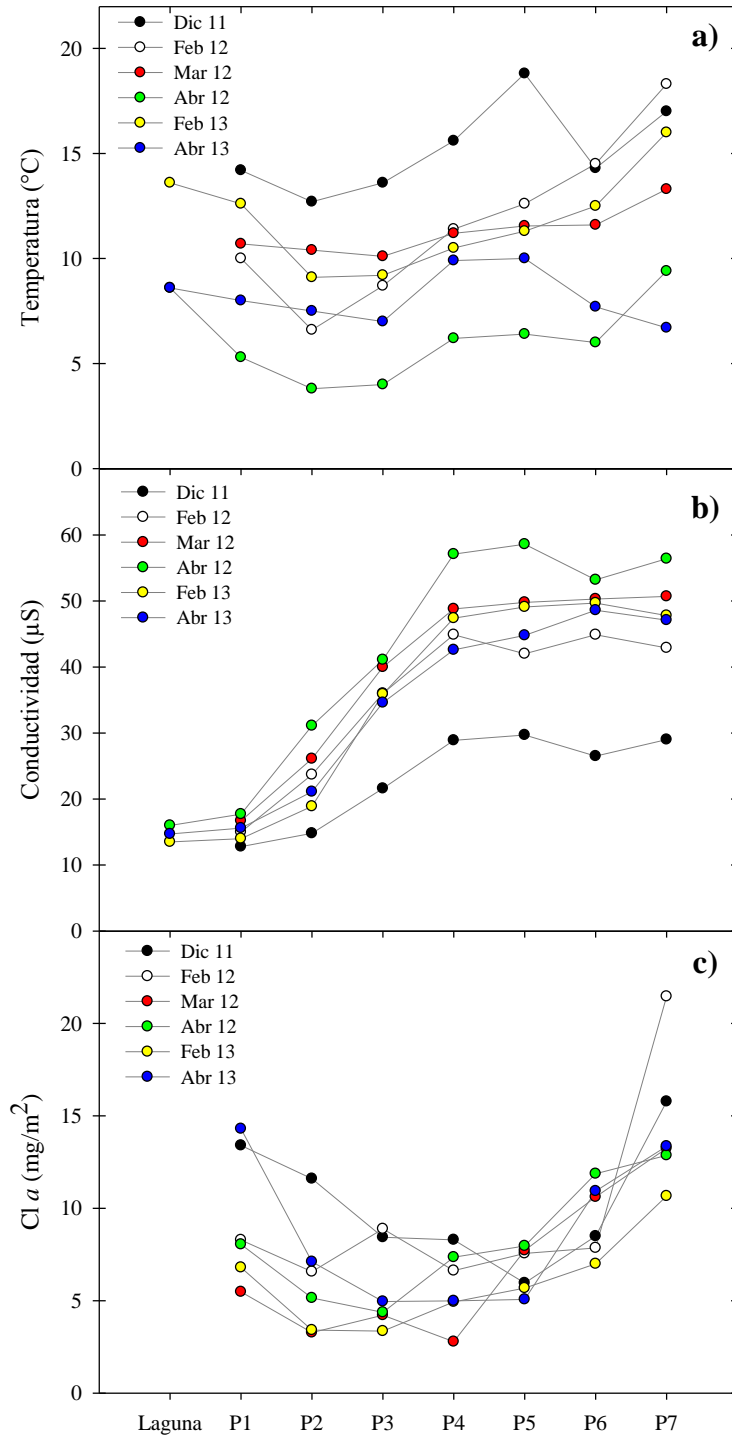


Figura II.3. Parámetros del agua en el perfil longitudinal del A° Casa de Piedra, desde la laguna Jakob hasta la desembocadura: a) Temperatura; b) Conductividad; c) Clorofila *a* (Cl *a*). (P: Punto de muestreo).

El ancho del A° Casa de Piedra se incrementó notablemente desde el P2 (4.5 ± 0.7 m) al P6 (15.3 ± 0.5 m). El ancho del P7 (desembocadura) fue mucho menor que el del punto anterior (5.4 ± 1.2 m) (**Fig. II.4**). Cabe aclarar que en este punto el arroyo descarga sus aguas sobre el lago en forma de delta, separándose en múltiples brazos. Si bien la medición del ancho se efectuó sobre el brazo mayor, existe una subestimación del ancho total del arroyo.

El caudal del A° Casa de Piedra presentó una correlación negativa con la altitud ($r = -0.360$, $p < 0.05$), incrementándose desde el P1 hasta el P5, y fluctuando entre 0.05 - 2.39 m³/s. Entre P3 y P4 se produce el ingreso de las aguas del A° Rucaco, que alimenta el caudal del A° Casa de Piedra. El curso bajo del arroyo (P6 y P7) presentó una disminución del caudal con respecto al cauce medio (P5) (**Fig. II.5a**). Cabe aclarar que en el P7 (desembocadura), el caudal estaría subestimado debido a la propagación de la subestimación del ancho, mencionada anteriormente. En el mes de diciembre del 2011 se registraron los valores máximos del caudal en todos los tramos del arroyo, reflejando el aporte de agua del deshielo (**Fig. II.5a**). Los niveles de sólidos totales en suspensión transportados por el arroyo fueron muy bajos durante todo el recorrido, con valores casi siempre inferiores a 1 mg/L (**Fig. II.5b**).

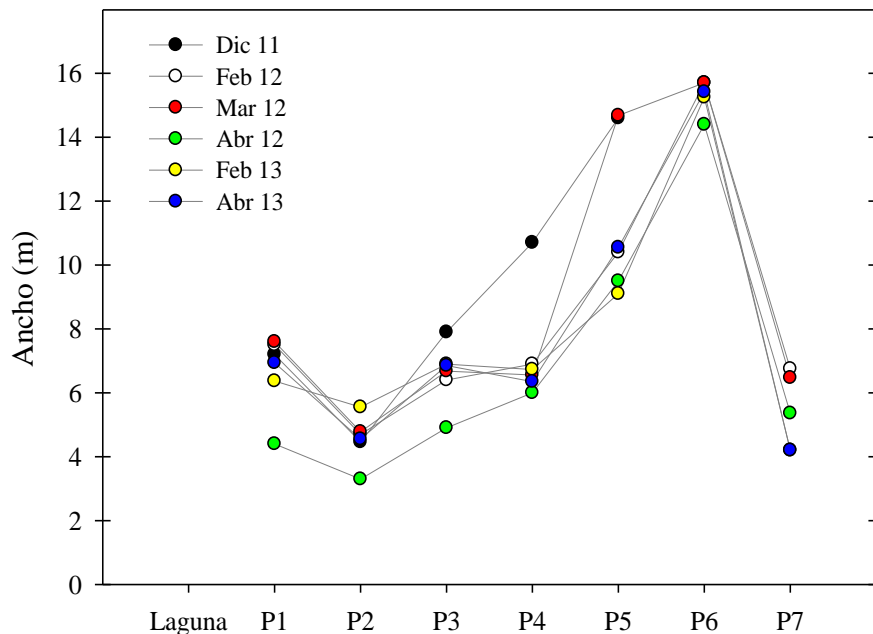


Figura II.4. Variación del ancho del A° Casa de Piedra en el perfil longitudinal, desde su nacimiento en la laguna Jakob hasta su desembocadura.

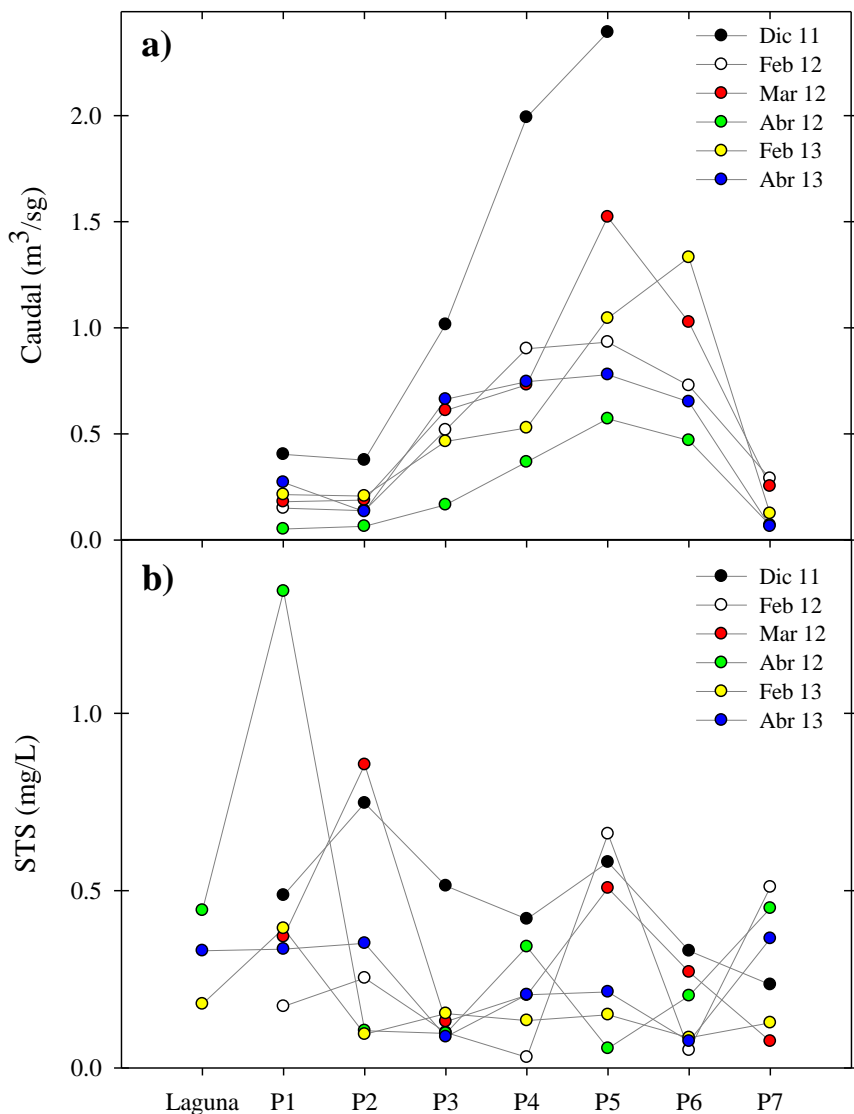


Figura II.5. Parámetros del perfil longitudinal del A° Casa de Piedra, desde la laguna Jakob hasta la desembocadura: a) Caudal; b) Sólidos totales en suspensión (STS). (P: Punto de muestreo).

En cuanto a los parámetros químicos del agua, a lo largo del curso del arroyo se determinaron concentraciones de COD muy bajas, siempre inferiores a 0.5 mg/L (**Fig. II.6a**). En todas las fechas analizadas, se evidenció un aumento del COD entre P3 y P4 (**Fig. II.6a**), luego del ingreso del A° Rucaco. El A° Casa de Piedra y la laguna Jakob presentaron valores muy bajos de nutrientes, la concentración de nitrógeno total osciló entre 9 y 135 µg/L y la de fósforo total entre 0.2 y 5 µg/L. Por lo general, se registró un descenso de la concentración de nutrientes entre los puntos 3 y 4, luego del ingreso de las aguas del A° Rucaco (**Fig. II.6b-c**).

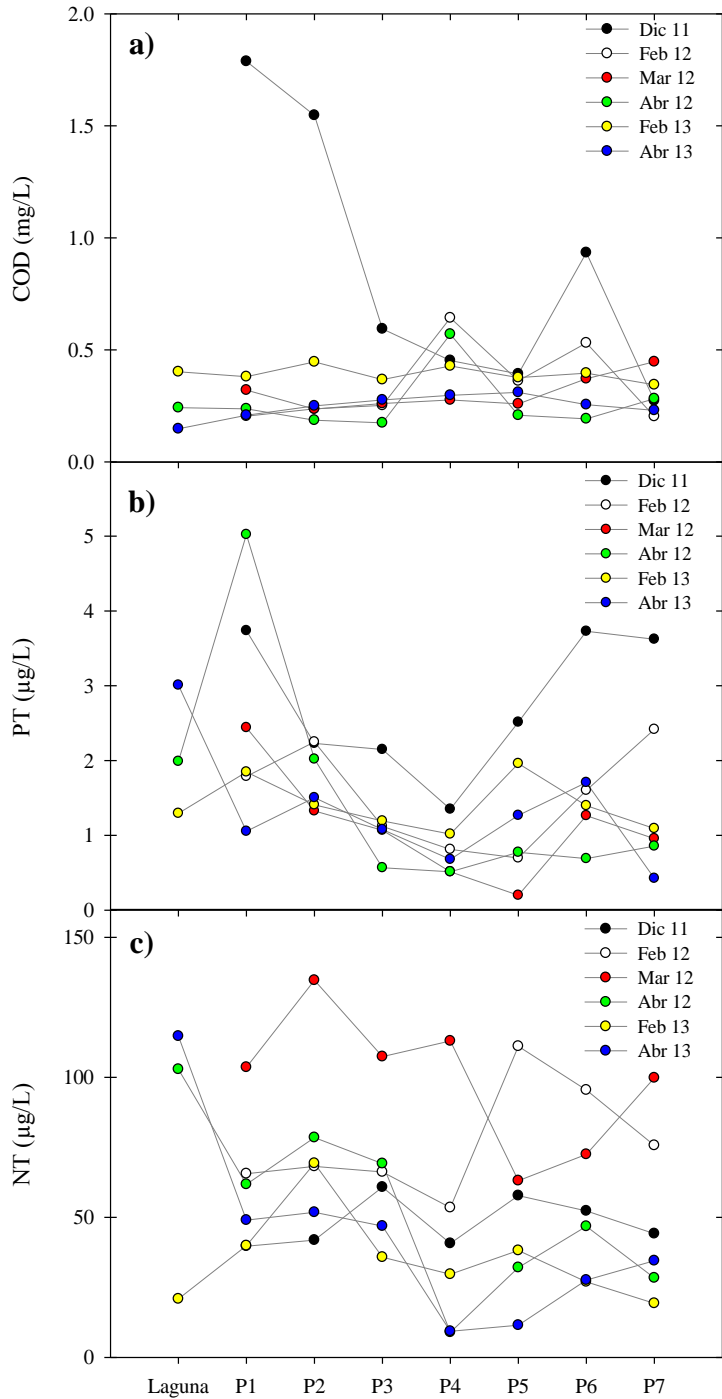


Figura II.6. Parámetros químicos del perfil longitudinal del A° Casa de Piedra, desde la laguna Jakob hasta la desembocadura: a) Concentración de carbono orgánico disuelto (COD); b) concentración de fósforo total (PT); c) concentración de nitrógeno total (NT). (P: Punto de muestreo).

Las mediciones espectrofotométricas sobre las aguas de la cuenca estudiada revelaron que la MOD de la laguna Jakob presenta menor aromaticidad (a_{254}), menor contenido de lignina (a_{350}) y valores menores de color (a_{440}) que la mayoría de los tramos del arroyo Casa de Piedra (**Fig. II.7a-c**). Se observó un aumento en las absorbancias desde el P1 a P3, seguido por un descenso hasta P7 en la mayoría de las fechas muestreadas. Los coeficientes de absorción a_{254} y a_{350} presentaron una correlación negativa con la altitud ($r = -0.507$, $p < 0.001$ y a_{350} : $r = -0.528$, $p < 0.001$, respectivamente). En diciembre de 2011, se observó la menor aromaticidad y el menor contenido de lignina en la MOD del arroyo, probablemente producto de la dilución producida por el deshielo. El indicador de aromaticidad varió entre 0.7 - 2.5 m^{-1} , el de contenido de lignina entre 0.13 y 0.77 m^{-1} y el color del agua entre 0.01 y 0.25 m^{-1} (**Fig. II.7a-c**).

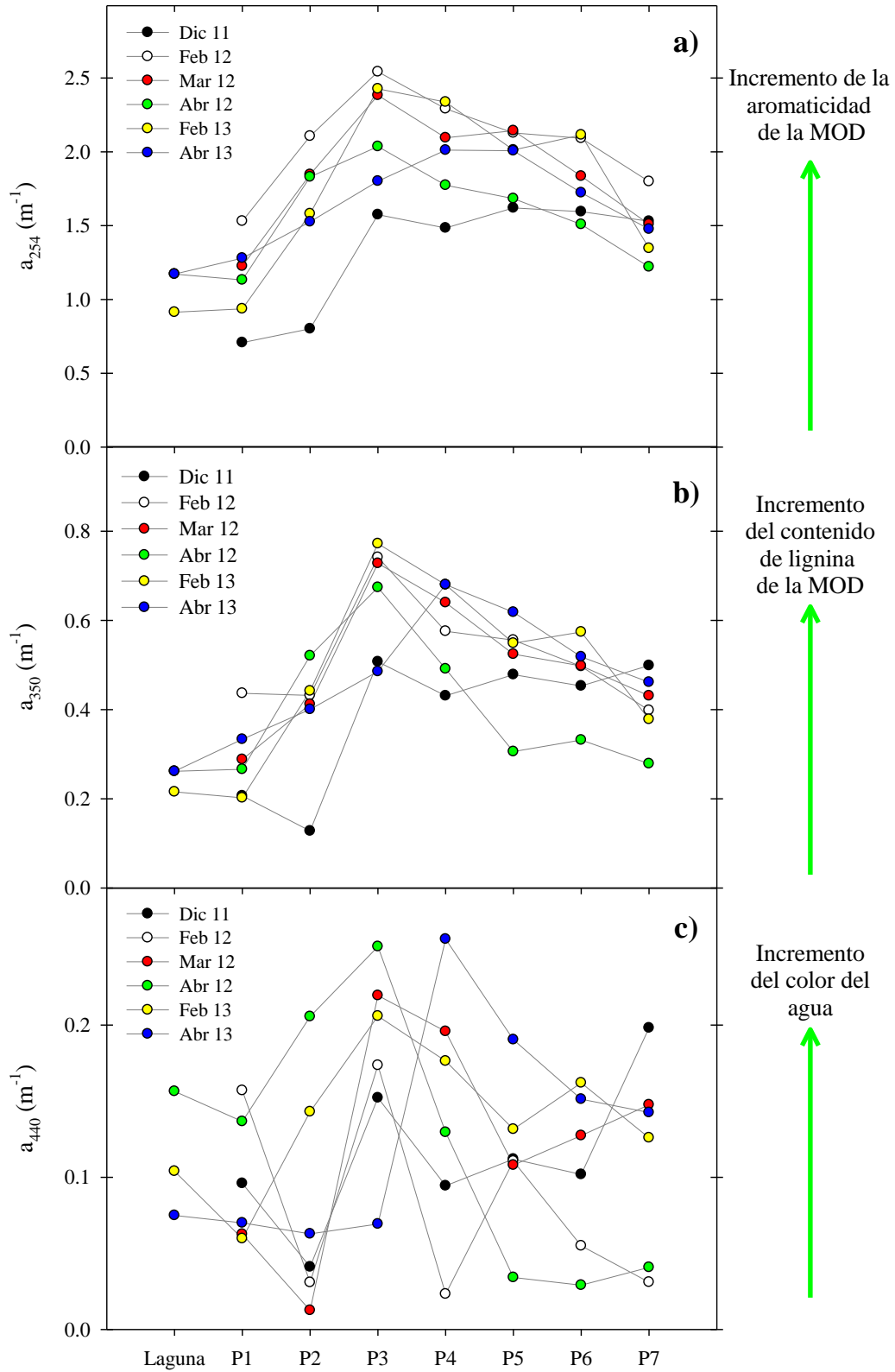


Figura II.7. Parámetros espectrofotométricos de la MOD en el perfil longitudinal del A° Casa de Piedra, desde la laguna Jakob hasta la desembocadura: a) a_{254} (indicador de aromaticidad); b) a_{350}

(indicador de contenido de lignina); c) a_{440} (estimador del color del agua). (P: Punto de muestreo).

El indicador de tamaño molecular (S_R) reveló que la MOD de la laguna Jakob presenta menor tamaño molecular que la MOD del A° Casa de Piedra. La MOD del arroyo presentó tamaño molecular grande, con escasa variación a lo largo del recorrido. El S_R no se correlacionó con la altitud del punto de muestreo ($r = 0.253$, $p = 0.09$). El P1 presentó en todas las fechas MOD de menor tamaño molecular (1.0-2.1) que el resto de los puntos de muestreo (0.45-1.29) (**Fig. II.8**), debido a una clara influencia de la capa superficial de la laguna Jakob que alimenta la naciente del arroyo. Por otra parte, en el P1 la vegetación riparia está poco desarrollada al igual que los suelos en los que domina la roca.

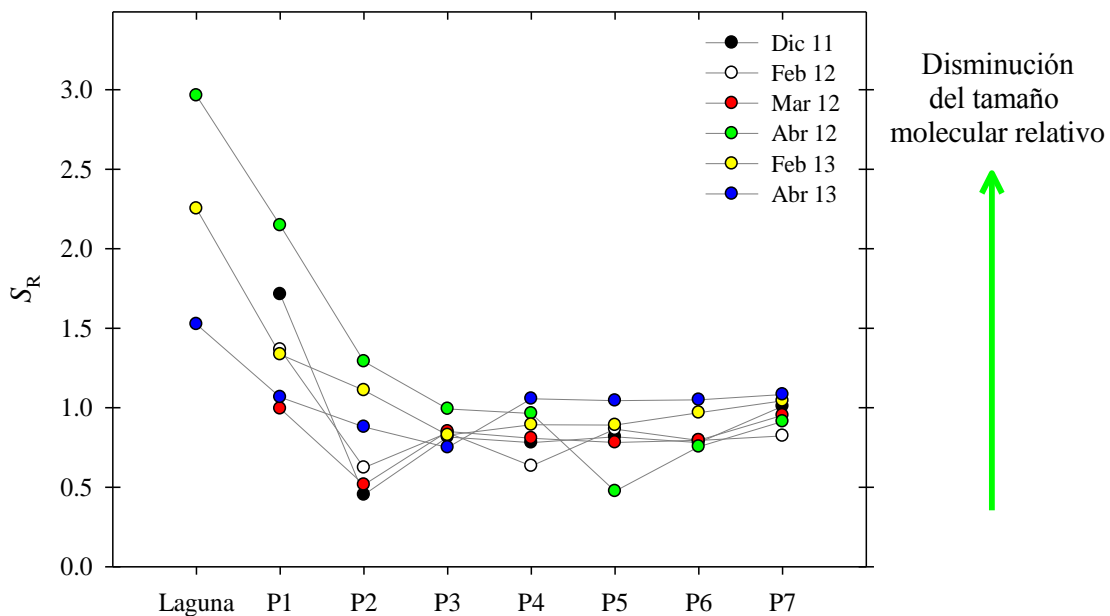


Figura II.8. Comportamiento del S_R (indicador de tamaño molecular de la MOD) a lo largo del perfil longitudinal del A° Casa de Piedra, desde la laguna Jakob hasta la desembocadura (P: Punto de muestreo).

II.4.2 PARAFAC

Los componentes identificados por el PARAFAC se encuentran descriptos en el Capítulo I ya que en este análisis se incluyeron las matrices de excitación-emisión EEMs del gradiente longitudinal del A° Casa de Piedra, como así también las obtenidas estacionalmente en los cuatro

arroyos de la cuenca. Dicho análisis identificó dos componentes (C1 y C2) asociados a sustancias tipo húmicas derivadas del ambiente terrestre y un componente (C3) que incluye compuestos tipo proteicos y/o derivados de pigmentos (ver sección I.4.3. y **Tabla I.5** del Capítulo I).

El agua del A° Casa de Piedra presentó en general valores bajos de fluorescencia, acorde a su escasa concentración de COD. La intensidad estuvo dominada por el C1 (picos A+M) a lo largo de todo el gradiente longitudinal del arroyo, salvo escasas excepciones en las que se registró un incremento de la intensidad del C3 (pico T) (**Fig. II.9**). A lo largo del eje longitudinal, se observó un incremento de las intensidades del C1 (picos A+M) y C2 (picos A+C), aunque el C2 presentó menor intensidad. Al respecto, se registró una correlación negativa entre la altitud de los sitios de muestreo y estos componentes húmicos (C1: $r = -0.66$, $p < 0.001$; C2: $r = -0.507$, $p < 0.001$), a diferencia del componente de tipo proteico, independiente de la altitud (C3: $r = -0.263$, $p = 0.101$). El C3 fluctuó temporalmente, con períodos de escasa representatividad (marzo de 2012) y otros con un aporte a la fluorescencia mayor que el C1 (febrero de 2012). Las intensidades más altas de C3 se registraron en el tramo final del arroyo (**Fig. II.9**).

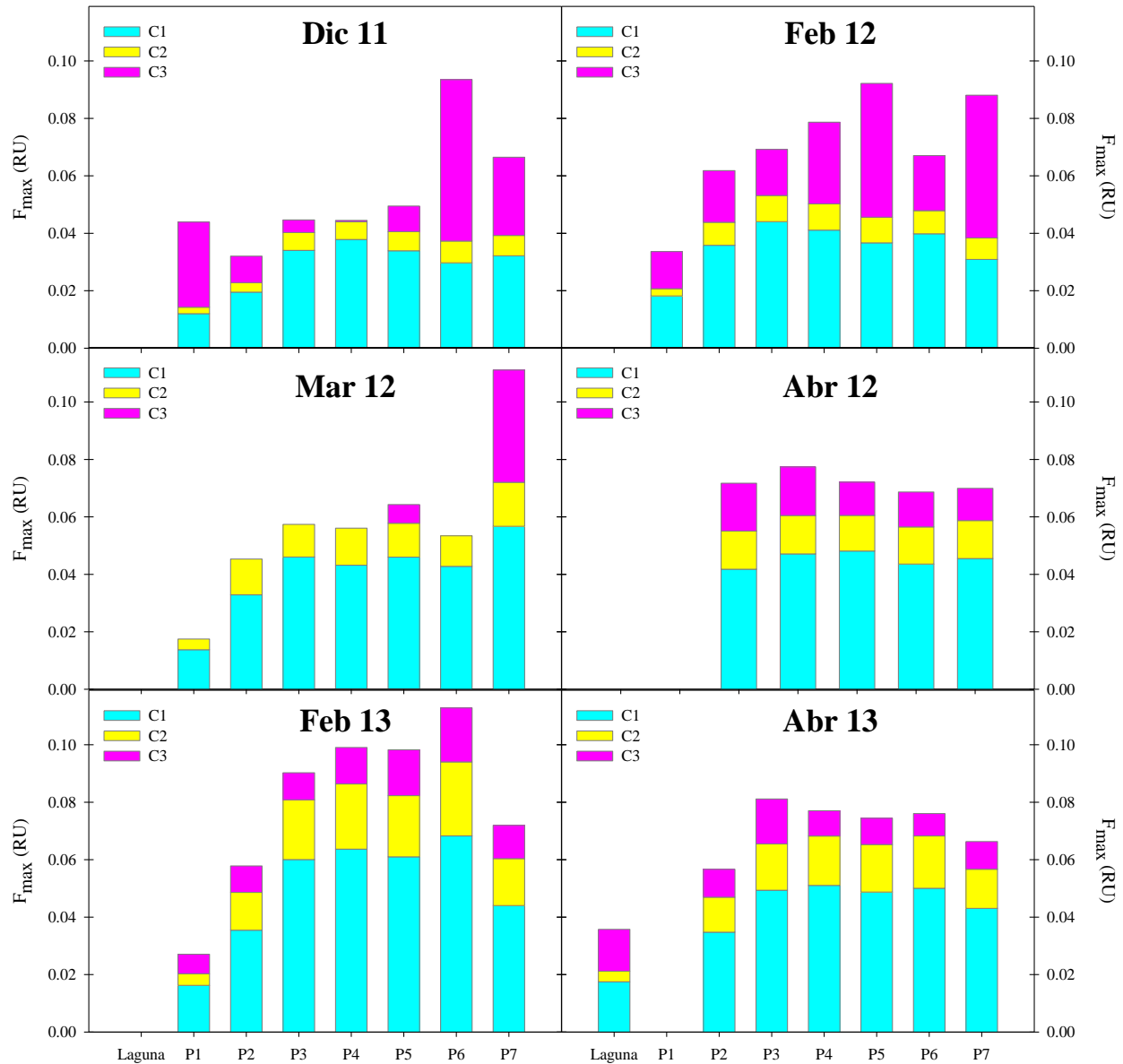


Figura II.9. Comportamiento de la fluorescencia máxima (F_{\max}) de los tres componentes de la MOD (C1, C2 y C3) de los distintos puntos de muestreo sobre el A° Casa de Piedra en las seis fechas de estudio (P: Punto de muestreo).

Los resultados del análisis multivariado RDA basado en las características de la MOD y las variables ambientales se presentan en la **Figura II.10**. Los primeros dos ejes explicaron el 15.2% de la varianza (eje 1 = 12.3%, eje 2 = 2.9%). El test de Monte Carlo indicó que las variables ambientales se correlacionaron significativamente con todos los ejes canónicos ($p < 0.05$). El primer eje estuvo definido por la conductividad y la altitud ($r = 0.45$ y $r = -0.31$,

respectivamente), mientras que el segundo eje se correlacionó con el caudal ($r = 0.28$). El RDA discriminó grupos de sitios en el gradiente longitudinal del A^a Casa de Piedra, en base a la composición de la MOD y las variables ambientales. El análisis reveló que los puntos más elevados (P1 y P2) presentan valores bajos de conductividad y caudal. El P3 se definió por valores intermedios o transicionales entre la zona de cabecera y los sitios aguas abajo. Mientras que el sector medio (P4 y P5) y final (P6 y P7) del arroyo se asociaron debido a sus mayores valores de caudal y conductividad. Particularmente estos tramos están caracterizados por presentar MOD con mayor contenido de lignina (a_{350}) y de componentes húmicos (C1 y C2), a su vez que presentan bajos valores de S_R (alto peso molecular).

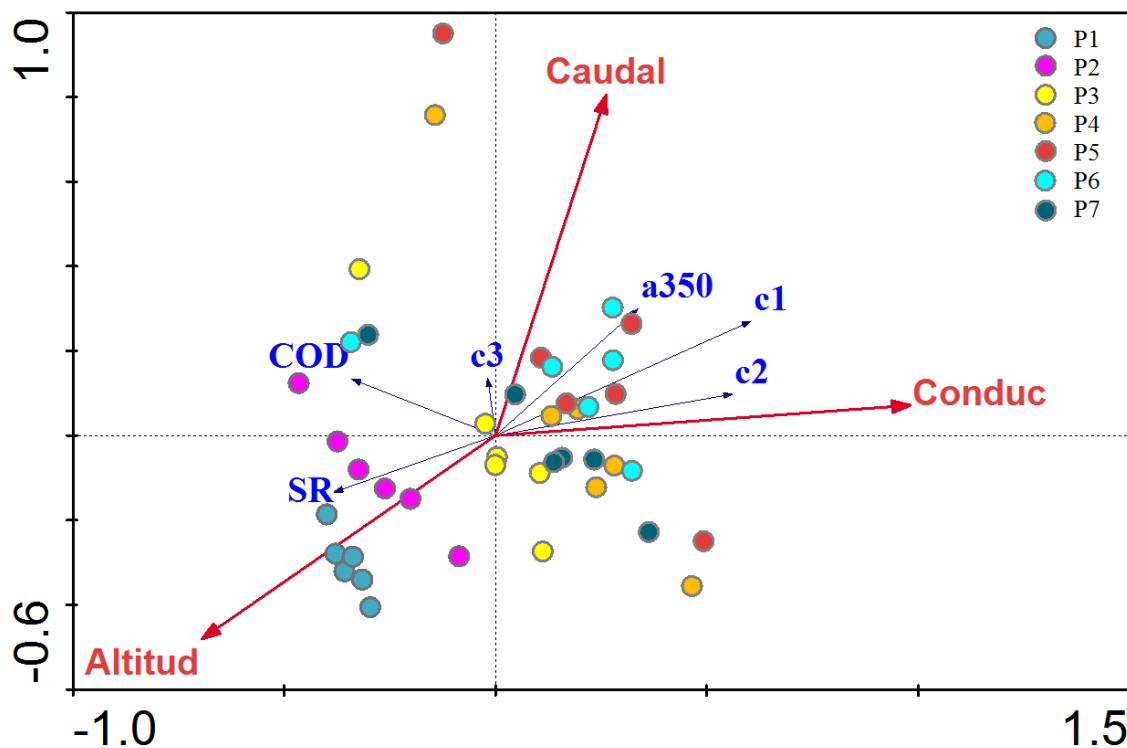


Figura II.10. Resultados del Análisis de Redundancia (RDA) (primer y segundo eje) basado en las propiedades de la MOD (flechas azules) y las variables ambientales (flechas rojas). a_{350} : coeficiente absorción a 350 nm; c1, c2 y c3: componentes fluorescentes de la MOD; COD: concentración de carbono orgánico disuelto. Conduc: conductividad; P: Punto de muestreo.

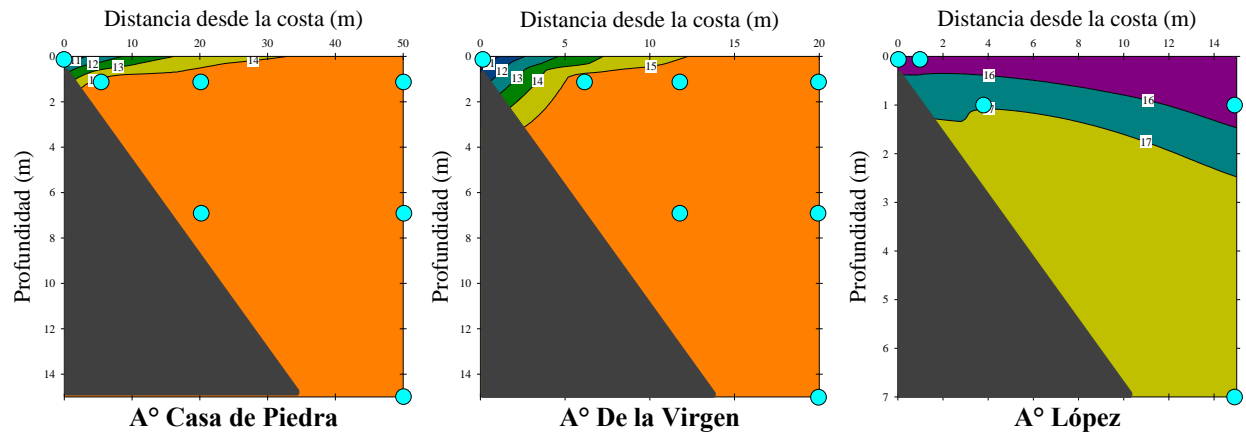
II.4.3 Ingreso de los arroyos en el complejo lacustre Moreno

Los análisis de muestras de agua colectadas a distintas profundidades y distancias de la costa dentro de los lagos Moreno Este y Oeste permitieron conocer la influencia de los arroyos al ingreso en los lagos. El muestreo de las plumas realizado a fin del verano del 2013 coincidió con la época de bajo caudal y escasa velocidad del agua en los arroyos, particularmente en los tramos próximos en la desembocadura. Como se mencionó anteriormente, la desembocadura del A° López no presentó un cauce superficial, produciéndose su infiltración aguas arriba y desaguando por vía subterránea.

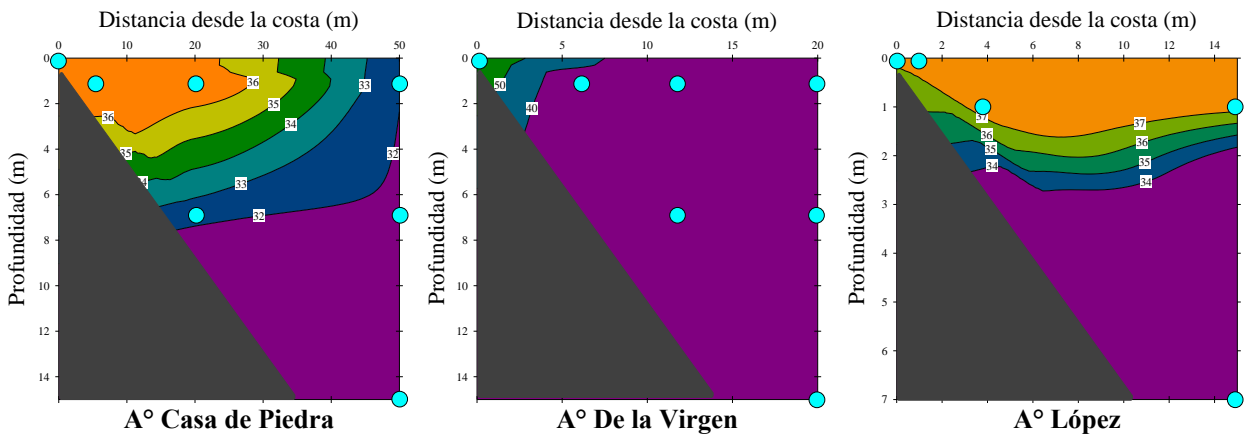
Los arroyos Casa de Piedra y De la Virgen presentaron temperaturas inferiores a las de la capa superficial del lago Moreno Este (~10 °C y 14-16 °C, respectivamente). En la pluma de los arroyos, la temperatura se homogeneizó a los 7 metros de la costa del lago y desembocadura de los arroyos (**Fig. II.11a**). En el A° López, aguas arriba de su desembocadura, la temperatura fue levemente menor (15 °C) que en su desembocadura sobre el lago Moreno Oeste (17.5 °C) (**Fig. II.11a**).

La conductividad de los tres arroyos fue mayor que la de los lagos (**Fig. II.11b**). La conductividad del agua disminuyó levemente desde la desembocadura a través de la pluma en el caso de los arroyos Casa de Piedra y López, mientras que en el A° De la Virgen se redujo casi a la mitad a tan sólo 6 metros de la costa. Los sólidos totales en suspensión (STS) en los lagos presentaron valores inferiores a los 0.5 mg/L, con variaciones mínimas entre los tres puntos de entrada de los arroyos. El A° Casa de Piedra ingresó al lago con valores de STS menores que los del lago (0.1 mg/L) mientras que el A° López ingresó con valores levemente superiores a los del lago (0.5 mg/L). En el A° De la Virgen se registraron valores mayores de STS (2.8 mg/L) diluyéndose a los pocos metros dentro del lago (**Fig. II.11c**).

a) Temperatura ($^{\circ}\text{C}$)



b) Conductividad (μS)



c) Sólidos totales en suspensión (mg/L)

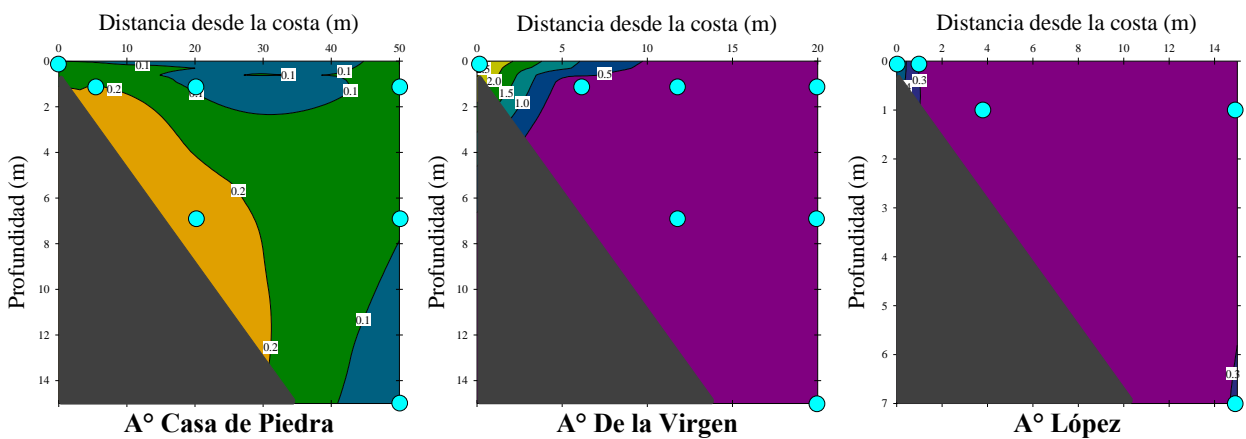
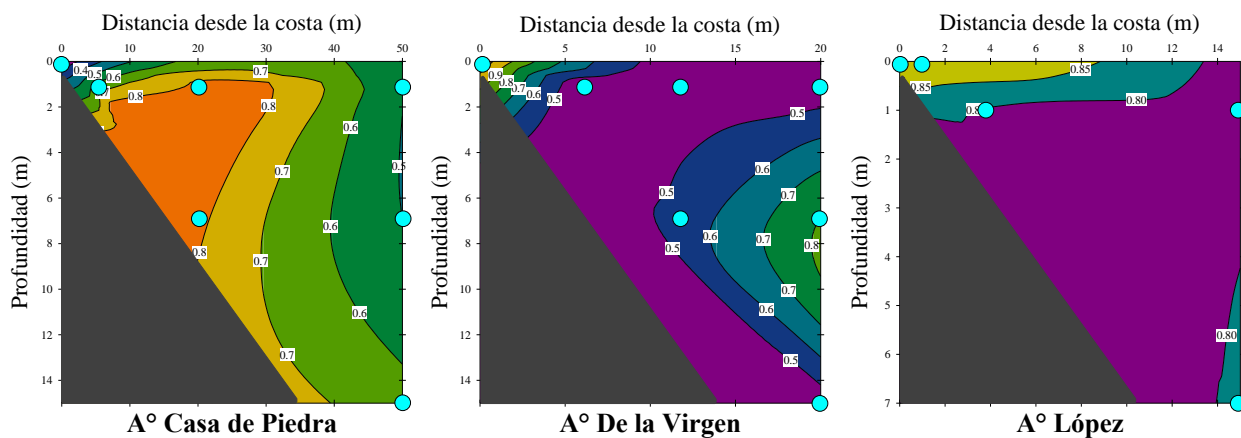


Figura II.11. Isolíneas de: a) temperatura ($^{\circ}\text{C}$), b) conductividad (μS) y c) sólidos totales en suspensión (STS; mg/L) en el complejo lago Moreno en las zonas de desembocadura de los arroyos estudiados. Los puntos color celeste representan los puntos de muestreo dentro del lago, a

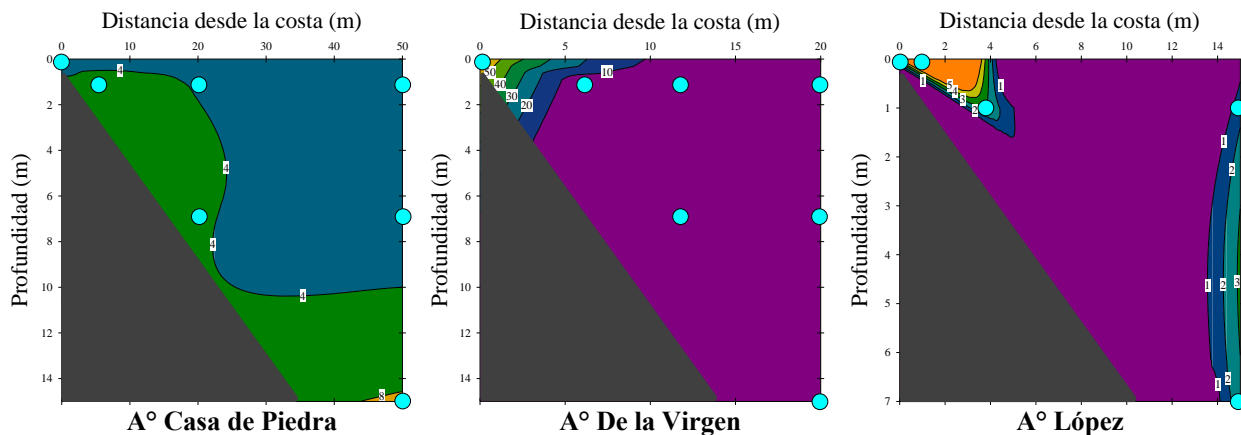
una determinada profundidad y distancia de la costa, siendo la coordenada 0:0 la desembocadura del arroyo. Los números recuadrados en blanco indican el valor de la isolínea.

La concentración de COD en los arroyos De la Virgen y López fue mayor que los valores registrados en los distintos puntos de los lagos, produciéndose una dilución rápida desde un rango de 0.9-1.0 mg/L a uno de 0.4-0.9 mg/L a los pocos metros de sus desembocaduras. Por el contrario, el A° Casa de Piedra presentó en su desembocadura una concentración de COD inferior a la registrada en el lago Moreno Este, produciendo un descenso en el COD en la costa del lago (**Fig. II.12a**). El A° Casa de Piedra aportó una concentración de nutrientes similar a la existente en el lago, con un rango de variación de 1.1-8.4 µg/L para el fósforo total (PT) y 109-315 µg/L para el nitrógeno total (NT), no observándose un claro patrón en la entrada de nutrientes del arroyo al lago. En la desembocadura del A° López, la concentración de nutrientes, fue más elevada en la zona de macrófitas, con concentraciones 11.0 µg/L de PT y 134 µg/L de NT. El resto de los puntos de la pluma presentaron concentraciones de PT entre 1.6 y 2.7 µg/L y concentraciones de NT en un rango entre 95 y 128 µg/L. El A° De la Virgen aportó al lago una concentración elevada de PT (60.7 µg/L) y de NT (747 µg/L), observándose luego un patrón claro de dilución de los nutrientes en la pluma (**Fig. II.12b y c**).

a) Carbono orgánico disuelto (mg/L)



b) Fósforo total (µg/L)



c) Nitrógeno total (µg/L)

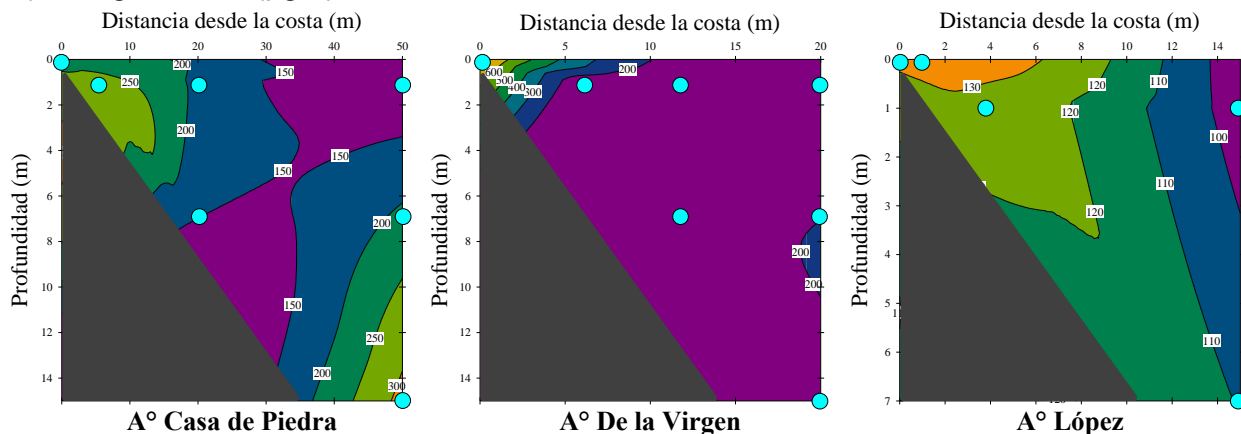
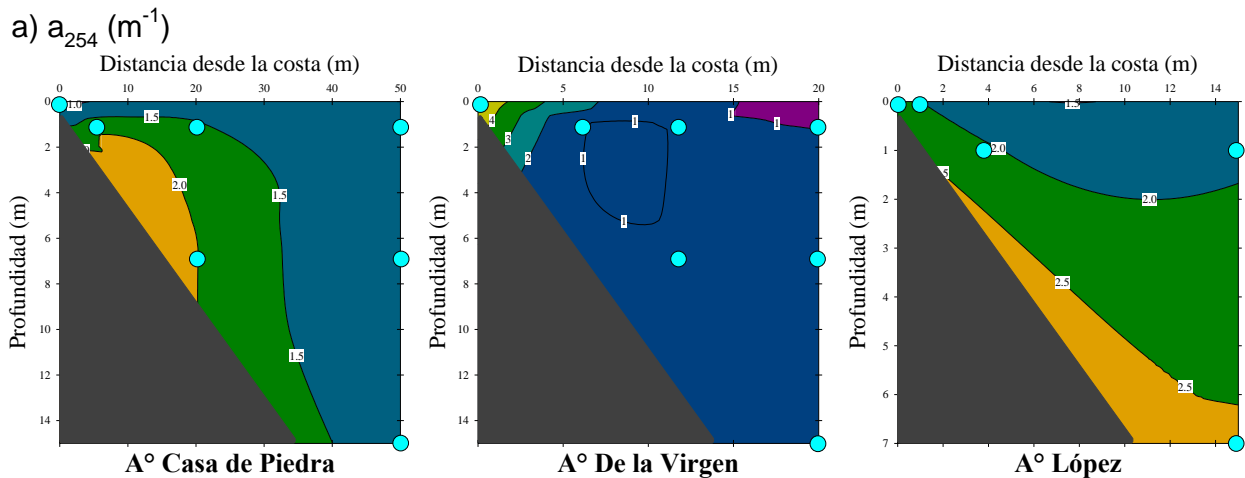


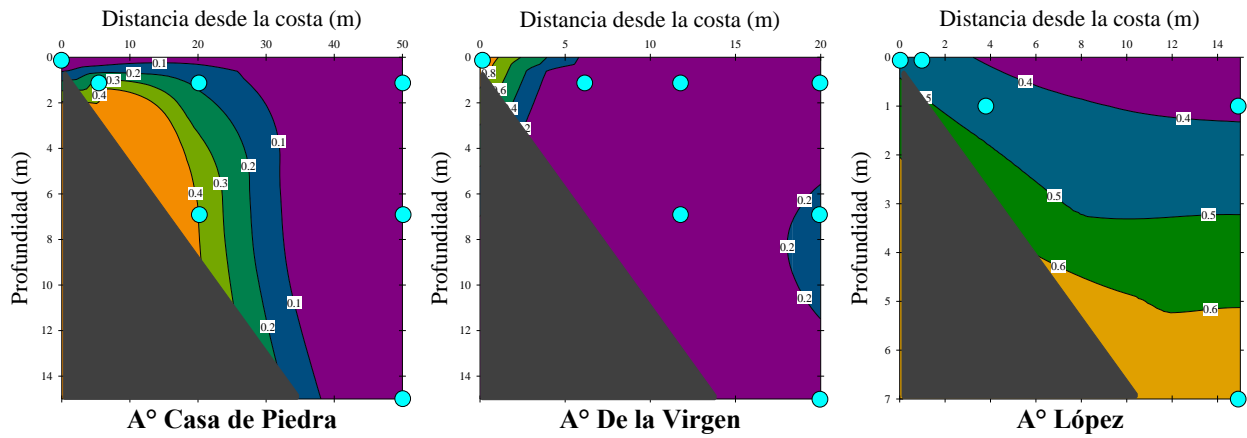
Figura II.12. Isolíneas de concentración de: a) carbono orgánico disuelto (COD; mg/L); b) fósforo total (PT; µg/L); c) nitrógeno total (NT; µg/L) en las zonas de desembocadura de los arroyos hacia el complejo lacustre Moreno. Los puntos color celeste representan los puntos de muestreo dentro del lago, a una determinada profundidad y distancia de la costa, siendo la

coordenada 0:0 la desembocadura del arroyo. Los números recuadrados en blanco indican el valor de la isolinia.

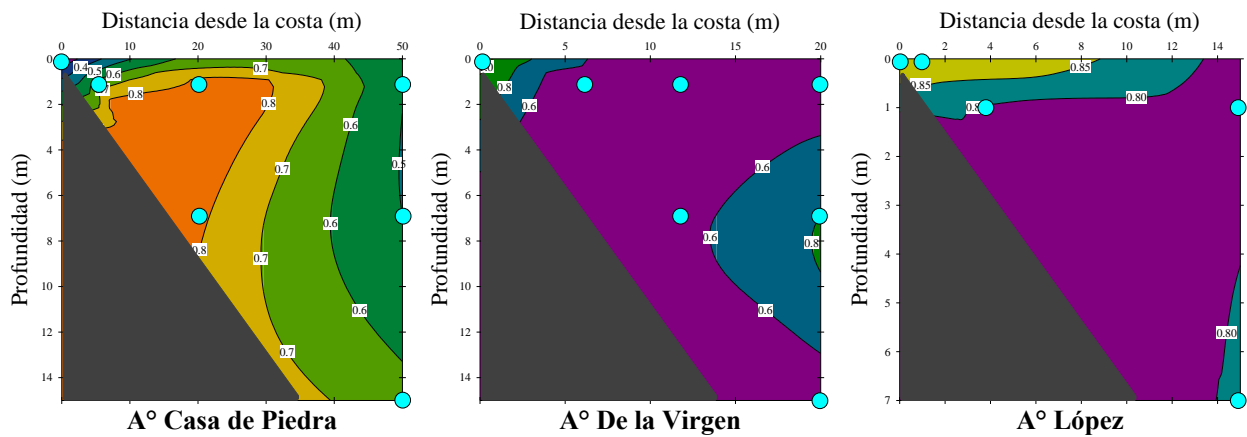
Los análisis espectrofotométricos sobre la MOD detectaron valores bajos de absorbancias dentro del complejo lacustre Moreno (**Fig. II.13 a-c**). Los arroyos Casa de Piedra y López presentaron una MODC con características de aromaticidad ($a_{254} = 0.8\text{-}2.5 \text{ m}^{-1}$), contenido de lignina ($a_{350} = 0.1\text{-}0.7 \text{ m}^{-1}$) y color del agua ($a_{440} = 0.2\text{-}0.9 \text{ m}^{-1}$) dentro del rango de variación de los sitios dentro de los lagos. Sólo en el A° De la Virgen se registraron valores mayores de MODC ($a_{254} = 5.0 \text{ m}^{-1}$, $a_{350} = 1.0 \text{ m}^{-1}$ y $a_{440} = 1.1 \text{ m}^{-1}$) por fuera de los rangos observados en el lago Moreno Este ($a_{254} = 0.9\text{-}1.8 \text{ m}^{-1}$, $a_{350} = 0.1\text{-}0.3 \text{ m}^{-1}$ y $a_{440} = 0.4\text{-}0.8 \text{ m}^{-1}$), indicando un fuerte aporte de MODC por parte de este arroyo. El tamaño molecular de la MOD de los arroyos fue mayor que el de la MOD lacustre (**Fig. II.13 a-c**). El S_R en los lagos varió entre 1 y 5, mientras que en los arroyos Casa de Piedra y De la Virgen fluctuó alrededor de 0.75. El aporte de MOD del A° López al lago Moreno Oeste se caracteriza por su menor tamaño molecular (S_R de ~ 1.8) en comparación con los aportes de los arroyos Casa de Piedra y De la Virgen al lago Moreno Este.



b) a_{350} (m^{-1})



c) a_{440} (m^{-1})



d) S_R

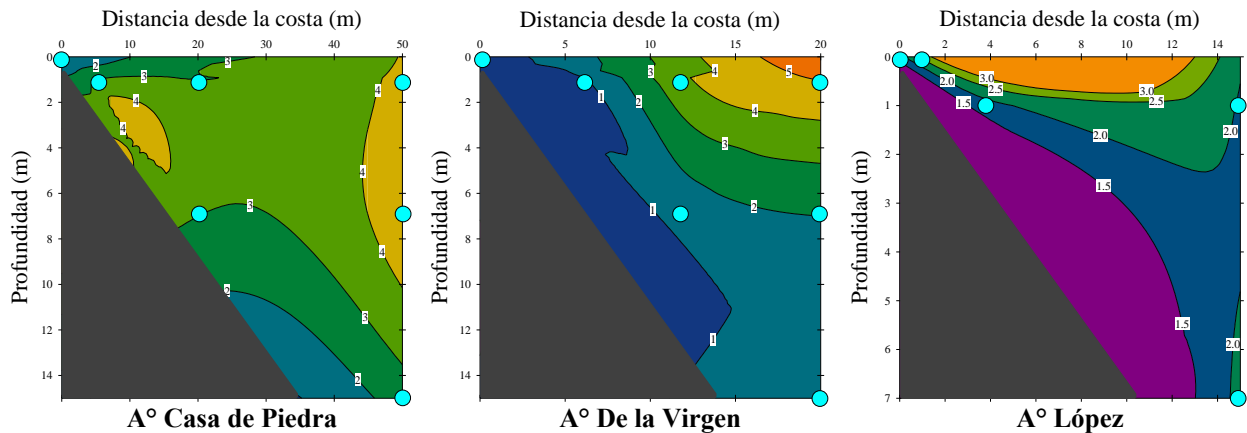


Figura II.13. Isolíneas de: a) a_{254} (m^{-1}), b) a_{350} (m^{-1}), c) a_{440} (m^{-1}) y, d) S_R en las zonas de desembocadura de los arroyos estudiados en el complejo lacustre Moreno. Los puntos color celeste representan los puntos de muestreo dentro del lago, a una determinada profundidad y

distancia de la costa, siendo la coordenada 0:0 la desembocadura del arroyo. Los números recuadrados en blanco indican el valor de la isolínea.

II.5 DISCUSIÓN

Las cuencas de las redes fluviales norpatagónicas incluyen unidades paisajísticas variadas sobre terrenos montañosos, en un gradiente altitudinal pronunciado. A lo largo de este gradiente, se disponen diferentes unidades de vegetación que incrementan su complejidad a medida que disminuye la altura. Por encima de los 1600 m s.n.m. la vegetación está compuesta por herbáceas típicas de los eriales de altura sobre suelos rocosos (vegetación altoandina). Entre los 1600 y 1400 m s.n.m. comienza a desarrollarse el bosque caducifolio de lenga (*Nothofagus pumilio*) que bajo las condiciones climáticas extremas presenta un morfotipo achaparrado (“*krumholz*”), reemplazado entre 1400 y 900 m s.n.m. por el morfotipo erecto de la especie y, entre los 900 y 800 m s.n.m., por un bosque mixto de coihue (*N. dombeyi*) y ciprés (*Austrocedrus chilensis*) (Daniels y Veblen, 2003). Los suelos incrementan también su complejidad, lo que se refleja en un desarrollo de horizontes más profundos (Bessera y Moretti, 1993).

El arroyo Casa de Piedra se caracteriza por ser un arroyo frío con niveles basales extremadamente bajos de COD (< 0.5 mg/L), nutrientes (TN: 20-100 µg/L; TP: 0.2-5 µg/L) y sólidos totales en suspensión (< 1 mg/L) (ver resultados Capítulo I). Este estudio sobre el arroyo fue realizado en verano, con baja incidencia de lluvias, en época de “aguas bajas” y escaso escurrimiento superficial de la cuenca. Se incluyó una fecha atribuible a la época de deshielo (diciembre 2011) en la cual se observó el máximo caudal en el arroyo mientras que en las fechas posteriores se observó una reducción gradual del caudal. Por lo tanto, los resultados obtenidos muestran principalmente la contribución y el transporte de base de los materiales de la cuenca y la contribución directa de biomasa vegetal durante el verano y el otoño. Este período permite evaluar cambios a lo largo la red fluvial atribuibles casi exclusivamente a procesos internos, e influenciados por un mayor tiempo de residencia del agua, temperaturas más cálidas que favorecen la actividad microbiana y una mayor incidencia de luz que potencia tanto la producción primaria como las reacciones fotoquímicas (McClain et al., 2003; Temnerud et al., 2007).

El A° Casa de Piedra nace en la laguna Jakob y, por lo tanto, en su cabecera el agua comparte características con la laguna, aunque probablemente sólo por escasos metros del recorrido. Durante el período estudiado, la temperatura del agua fue mayor en la laguna que en la

cabecera del arroyo, mientras que su conductividad fue levemente inferior (**Fig. II.3a y b**). Si bien las concentraciones de STS, COD y nutrientes estuvieron dentro del mismo rango en la laguna y en el P1 (**Fig. II.5b y 6a-c**), se registraron diferencias notables en cuanto a la calidad de la MOD. La MOD de la laguna presentó valores menores de absorbancia en general, menor aromaticidad (a_{254}), menor contenido de lignina (a_{350}) y coloración del agua (a_{440}), que la mayoría de los sitios en el gradiente del arroyo (**Fig. II.7a-c**). En este sentido, las propiedades de la MOD de la laguna permiten inferir cierto grado de procesamiento en el sistema. La menor intensidad de las señales alóctonas en la laguna se debería a un aporte bajo de MOD de la vegetación y suelos circundantes poco desarrollados. Esto sumado naturalmente a los procesos de degradación internos (foto y biodegradación), favorecidos por el mayor tiempo de residencia del agua. La diferencia más marcada entre la MOD de la laguna y el arroyo se observa en el tamaño molecular (S_R), que es mucho menor en la laguna (**Fig. II.8**). La laguna Jakob presentó absorbancias similares a otras lagunas de altura de la zona, como las lagunas Toncek, Schmoll y Témpanos (García et al., 2015a). Por lo general, la materia orgánica de menor tamaño molecular es generada por la producción primaria autóctona aunque también puede ser el producto de la fotodegradación de la MOD alóctona (Helms et al., 2008, 2014; Ishii y Boyer, 2012).

La caracterización de la MOD mediante fluorescencia confirmó lo observado a través de los parámetros de absorbancia. La laguna Jakob presentó la menor intensidad de los componentes y las aguas del A° Casa de Piedra presentaron intensidades de fluorescencia comparativamente más altas a lo largo de todo su recorrido (**Fig. II.9**). El estudio de las EEMs mediante el análisis PARAFAC permitió distinguir dos componentes de tipo húmicos (C1 y C2) y uno de tipo proteico (C3), que variaron su intensidad de fluorescencia a lo largo de la cuenca del A° Casa de Piedra. Los componentes C1 (picos A+M) y C2 (picos A+C) incluyen sustancias derivadas del ambiente terrestre (Coble, 1996, 2007; Stedmon et al., 2003; Ishii y Boyer, 2012), con alto contenido aromático y peso molecular elevado (Coble, 2007; Fellman et al., 2010). El pico M incluido en el C2 es producido por sustancias de bajo peso molecular derivadas de la actividad microbiana (Hur et al., 2009). El C3 (pico T) es producido por sustancias similares a proteínas (Coble, 1996; Stedmon et al., 2003; De Laurentiis et al., 2012) y pigmentos (Coble et al., 1998; Coble, 2007), de bajo peso molecular y gran biolabilidad (Cory y Kaplan, 2012). La fluorescencia de la MOD de la laguna Jakob estuvo co-dominada por el C1 (picos A+M) y el C3 (pico T) (**Fig. II.9**). La presencia del C3 se debería a la producción primaria de la laguna (García

et al., 2015a), mientras el C1 tendría un origen terrestre y cierto grado de procesamiento microbiano (Hur et al., 2009; Fellman et al., 2010; Ishii y Boyer, 2012). Estudios recientes en lagunas de altura de la región evidenciaron diferencias significativas en la composición de la MOD relacionadas con la posición de los cuerpos de agua respecto a la línea de vegetación (Bastidas Navarro et al., 2014; García et al., 2015a). En este sentido, la MOD de los lagos de altura ubicados por encima de la línea de vegetación presentó un fuerte componente proteico de origen autóctono, comparable con el pico T descrito en esta tesis. Las lagunas situadas por debajo de la línea de vegetación presentaron dos componentes húmicos de origen alóctono, comparables con los picos A y C descritos en esta tesis, además del componente proteico. La dominancia del material alóctono o autóctono en los ambientes patagónicos de montaña se encuentra entonces fuertemente influenciada por la vegetación y los suelos de la cuenca (Bastidas Navarro et al., 2014; García et al., 2015a). En este sentido, los cambios en las especies vegetales y en los suelos en el gradiente altitudinal impactan la química del agua localmente y aguas abajo (Vannote et al., 1980; Asano et al., 2009; Creed et al., 2015; Huang et al., 2015). Al respecto, el A° Casa de Piedra desciende casi 800 m desde su cabecera hasta su desembocadura, atravesando una gran variedad de entornos. La conductividad del agua, que aumenta a lo largo del arroyo, permite visualizar de manera simple el patrón de ingreso y el flujo de los materiales desde la cuenca (**Fig. II.3b; Fig. II.10**). El agua de la cabecera presenta la influencia de materiales subsidiados por la laguna Jakob y por los matorrales bajos de lenga típicos de las proximidades de la línea de vegetación. Este sector del arroyo presenta un caudal reducido ($< 0.4 \text{ m}^3/\text{sg}$), aguas frías y expuestas a elevados niveles de radiación solar por la altura (Zagarese et al., 1998, 2000; Díaz et al., 2006) y la ausencia del dosel. Los componentes de la MODF en este punto presentaron la menor intensidad de fluorescencia dentro del arroyo, con una gran variación en cuanto a dominancia de los componentes (**Fig. II.9; Fig. II.10**). Aguas abajo, el arroyo atraviesa grandes pendientes que se reflejan en la formación de cascadas. Los bosques altos de lenga se vuelven dominantes regulando fuertemente la incidencia de luz solar. Por otra parte, los suelos son más desarrollados, lo que en conjunto determinaría un mayor aporte MOD al cuerpo de agua, como se infiere a través de la entrada de MO particulada en otros arroyos de cabecera de la región (Albariños et al., 2009; Mariluan et al., 2015). En efecto, esto se evidencia a través del aumento considerable de la aromaticidad (a_{254}), contenido de lignina (a_{350}) y tamaño molecular (S_R) de la MOD a lo largo del gradiente altitudinal (**Fig. II.10**). Se observa un rango variable en

la coloración del agua (a_{440}), sin embargo en un contexto global las absorbancias son extremadamente bajas y corresponden a aguas de elevada transparencia (Spencer et al., 2012).

Los componentes de fluorescencia indican la dominancia del C1 (picos A+M), mientras que el otro componente húmico, C2 (picos A+C), presentó intensidades muy inferiores. Ambos componentes aumentaron progresivamente sus intensidades a lo largo del gradiente altitudinal del arroyo (**Fig. II.10**), reflejando el aporte paulatino de MOD proveniente de los suelos cada vez más desarrollados, como ha sido indicado en otros estudios (Balcarczyk et al., 2009; Yamashita et al., 2011). El componente proteico presentó una intensidad variable a lo largo del arroyo, atribuible al aporte local de MOD proveniente de lixiviados de hojas en los tramos de cabecera y medio, y tal vez sumado al efecto de la producción primaria autóctona en el tramo final del arroyo (**Fig. II.9**), como ha sido señalado en otros estudios (Jaffé et al., 2012; 2014). El incremento del componente C3 durante el período de primavera-verano 2011-2012, reflejaría el impacto de la caída de la ceniza volcánica. La caída de ceniza en la región produjo el aislamiento de los suelos y, particularmente en el caso del bosque caducifolio de lenga, la ceniza aisló la hojarasca recientemente caída de los agentes físico-químicos habituales que producen el primer acondicionamiento. Este evento habría impactado las comunidades microbianas del suelo, y su actividad normal de degradación afectando las tasas y productos metabólicos, como fue discutido en el Capítulo I.

En el tramo medio del arroyo, el dosel se abre, la temperatura y el caudal del agua se incrementan. En el punto de muestreo P3 se registró la MOD más aromática, el mayor contenido de lignina y coloración en el agua, lo que indica un fuerte aporte de la MOD terrestre, proveniente de la vegetación caducifolia. A partir de este sector el tamaño molecular de la MOD se mantuvo estable en todo el arroyo, con valores de $S_R \sim 1$ indicativos de su mayor tamaño molecular. No se observaron grandes cambios en la concentración de COD (**Fig. II.6a**).

En el cauce medio del arroyo se observó la menor concentración de clorofila *a* en el perifiton, con valores inferiores a 9 mg/m^2 (**Fig. II.3c**). Entre los puntos P3 y P4, se produce el ingreso de las aguas del A° Rucaco. En este tramo del arroyo se observó, junto con el aumento del caudal, una disminución de la concentración de nutrientes y de las absorbancias (**Fig. II.6 y 7**), señalando que el A° Rucaco diluye las aguas del A° Casa de Piedra. Aunque no se registran cambios en la concentración de COD, los componentes de fluorescencia evidencian una gran variabilidad en sus intensidades entre estos dos puntos, posiblemente producto de la mezcla de la

MOD de los dos arroyos (**Fig. II.9**). El P5 del arroyo presentó el mayor caudal y los valores máximos de conductividad. En este punto, se observa un leve descenso de los indicadores de aromaticidad, contenido de lignina y coloración del agua y concentraciones estables de COD (**Fig. II.7**).

En el tramo final del arroyo se observó un aumento en la temperatura que, sumado a la disminución en la velocidad del agua, habrían favorecido la productividad del arroyo (McCallister et al., 2004; Battin et al., 2008). Los niveles de clorofila *a* en el perifiton fluctuaron entre 7-21 mg/m², con los valores más altos en la zona cercana a la desembocadura del arroyo (**Fig. II.3c**). Al igual que en el P5, el curso bajo del A° Casa de Piedra no presentó cambios en la concentración de COD, pero si se registró un descenso sostenido de los indicadores de aromaticidad, contenido de lignina y coloración del agua (**Fig. II.7**). El descenso de los parámetros espectrofotométricos se debería a procesos degradativos generados por la exposición a la radiación solar y/o por el consumo bacteriano, que son los procesos de mayor influencia sobre la transformación de la MOD (Duarte y Prairie, 2005; Helms et al., 2008; Mopper et al., 2015). Los cambios aguas abajo en la morfología del arroyo y el aumento del tiempo de residencia favorecerían estos procesos. La fotomineralización, además de generar CO₂ a partir de la MOD, mejora o reduce la biodegradabilidad de la fracción más recalcitrante del COD (Tranvik y Bertilsson, 2001; Ishii y Boyer, 2012; Helms et al., 2014). Otros trabajos han descrito reducciones en la aromaticidad y la cantidad de MOD en el gradiente longitudinal de ríos y arroyos producto de la fotólisis y el aumento del tiempo de residencia del agua (Larson et al., 2007, 2014; Jaffé et al., 2008). En este sector del arroyo también se registró una disminución del C1 (picos A+M) junto con un aumento del C3 (pico T) (**Fig. II.9**). Como se mencionó anteriormente, el aumento del componente proteico estaría relacionado con la mayor incidencia de la MOD hiporreica y secundariamente con el aumento de la productividad primaria del arroyo (Jaffé et al., 2012; 2014).

En los puntos de muestreo P6 y P7 disminuyó el caudal con respecto al tramo medio del arroyo (**Fig. II.5a**). En el A° Casa de Piedra la disminución en el caudal podría estar relacionada con la infiltración, los cambios urbanísticos que alteraron recientemente su trayectoria original sobre sector final del cauce y también la extracción de agua para alimentar sectores poblados cercanos al arroyo. Por otra parte, en este estudio se estimó el caudal a través de los parámetros

morfométricos del brazo mayor del P7, soslayándose la contribución de los brazos secundarios lo cual subestimó el caudal medido en este sitio.

Si bien este análisis altitudinal fue realizado en períodos de aguas bajas, es posible extrapolar los resultados encontrados en los capítulos I y II para inferir la dinámica de los materiales, COD y nutrientes en períodos de aguas altas o mayor caudal. En este sentido, resulta interesante analizar dos situaciones que afectarían diferencialmente: el incremento de la escorrentía por efecto de las lluvias y por efecto del deshielo de las altas cumbres. En las épocas de mayor precipitación (otoño-invierno) se esperaría que en conjunto con los aumentos importantes de caudal se produzcan incrementos en la conductividad y en la concentración de STS, el COD y los nutrientes. Teniendo en cuenta resultados presentados previamente, se puede inferir que el mayor ingreso de COD desde la cuenca se reflejaría también a través de los indicadores de aloctonía (a_{254} , a_{350} y a_{440}). Esto se observaría especialmente en los tramos medio y bajo del arroyo donde la cuenca posee mayor desarrollo de los suelos y de la vegetación, y la escorrentía produce un acarreo más importante de materiales de la cuenca. Bajo la influencia de las precipitaciones y de la escorrentía, en el tramo final del arroyo, la MOD presentaría predominancia de compuestos húmicos a diferencia de lo que sucede en períodos de aguas bajas en los cuales el componente proteico, asociado en ese tramo a la producción autóctona, cobraría más importancia. Por otra parte, en este estudio se observó que el deshielo de primavera (diciembre 2011) produjo a lo largo de todo el arroyo un aumento de caudal acompañado de un descenso en la conductividad y la aromaticidad de la MOD producto de la dilución del agua (**Fig. II.3, II.5, y II.7**). En general, en época de lluvias se observaría un gradiente longitudinal más pronunciado que en agua bajas dado que las lluvias incrementan la conectividad entre la cuenca y los arroyos. Este incremento en la conectividad afectará de manera más fuerte los tramos medio y bajo del arroyo que son los que atraviesan las porciones más complejas de la cuenca en término de desarrollo de la vegetación y de los suelos. Asimismo, el ingreso de los arroyos al lago provocaría un efecto más pronunciado en cuanto al aporte de materia orgánica y nutrientes que el observado en épocas de aguas bajas.

La desembocadura de los arroyos son zonas de transición donde ocurren grandes cambios en las condiciones ambientales (Hiriart-Baer et al., 2008; Stephens y Minor, 2010). En general, los ingresos de los arroyos estudiados sobre el complejo lago Moreno generaron una disminución de la temperatura del agua y un aumento de la conductividad y de los sólidos totales en

suspensión, particularmente en la capa superficial (**Fig. II.11**). El impacto del ingreso en la zona costera del lago varió en función del tamaño del afluente. Por ejemplo, los efectos de los arroyos más caudalosos sobre la conductividad superficial del lago se observaron a 15 m de la desembocadura del A° Goye y a 50 m en el caso del A° Casa de Piedra. En cambio en el A° De la Virgen, con una conductividad que duplica a la del lago, el ingreso se diluyó antes de los 7 m de distancia desde la costa. En el caso del COD y los nutrientes, el impacto fue aún más local, probablemente debido a las bajas concentraciones de los arroyos. En el ingreso del A° Casa de Piedra se evidenció incluso un efecto de dilución (**Fig. II.12**).

En las redes fluviales andino-patagónicas, los materiales de la cuenca transportados por los arroyos de montaña son concentrados en los lagos pedemontanos profundos. En efecto, se ha evidenciado que la MOD terrestre alimenta la trama trófica pelágica del complejo lacustre Moreno (Queimaliños et al., 2012). La MOD alóctona procesada por las bacterias y transformada dentro del bucle microbiano es transferida a niveles tróficos superiores de la trama pelágica por organismos planctónicos, como los ciliados y flagelados mixotróficos (Queimaliños et al., 1999; Modenutti y Balseiro, 2002).

Los parámetros ópticos también indican la influencia de los arroyos sobre los lagos debidos al aporte de MOD levemente más aromática, con mayor contenido de lignina y color (**Fig. II.13**). La MOD de origen terrestre es el principal regulador de la transparencia de la columna de agua en los lagos (Morris et al., 1995). El color del agua (a_{440}) en los lagos Moreno Este y Oeste es extremadamente bajo durante todo el año, sin embargo, fluctúa estacionalmente con el ingreso de MOD terrestre (Queimaliños et al., 2012), creando climas ópticos levemente fluctuantes aunque probablemente sin efectos sobre la producción primaria pelágica. Es necesario remarcar que incluso a niveles basales de MOD en los arroyos, se observan características transicionales en la zona costera del lago. Posiblemente durante períodos de precipitación alta en el otoño, cuando los arroyos transportan la mayor cantidad de materiales y se registran los niveles de aloctonía más altos en los lagos (Queimaliños et al., 2012), el efecto de la pluma se encuentre amplificado.

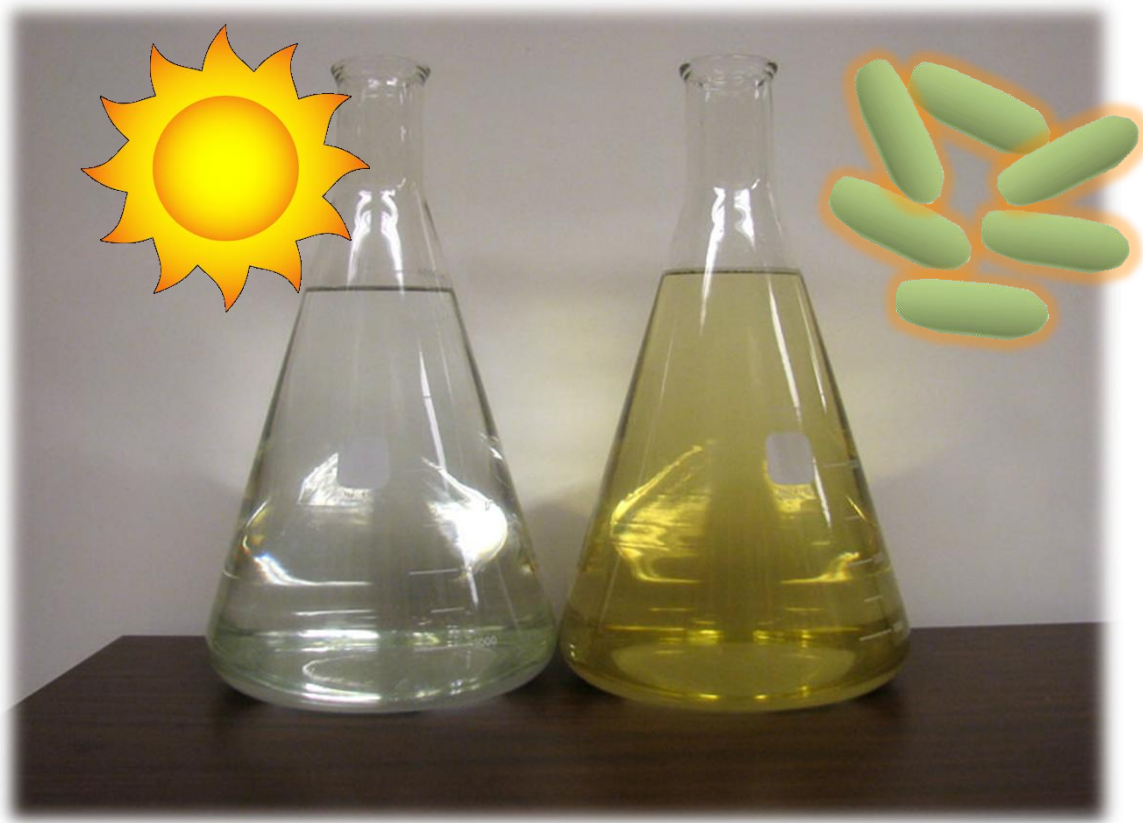
Los gradientes altitudinales pronunciados reflejan condiciones diferenciales de temperatura, precipitación, vegetación y tipo de suelo, como en el caso analizado, y resultan interesantes para estudiar la transferencia de materiales entre los sistemas terrestre y acuático, y particularmente el flujo de la MOD (Aitkenhead et al., 1999; Huang et al., 2013). A lo largo del

gradiente altitudinal de la cuenca del A° Casa de Piedra, se observaron cambios en la calidad de la MOD aun cuando las concentraciones de COD fueron en general extremadamente bajas. Las diferencias en la calidad pueden ser inducidas por una variedad de procesos físico-químicos y ecológicos que además interactúan sinérgicamente. El análisis del cambio espacial de la concentración y la calidad de la MOD puede indicar procesos a nivel de la cuenca (Lu et al., 2003; Maie et al., 2006.; Agren et al., 2008; Jaffé et al., 2008; Huang et al., 2015). Con el fin de comprender los ciclos biogeoquímicos globales es fundamental la caracterización de la MOD, la identificación de sus fuentes, procesos de transformación y agentes transformadores en un abanico de ecosistemas acuáticos a lo largo de gradientes climáticos y geomorfológicos (Battin et al., 2008; Williams et al., 2010; Yamashita et al, 2011; Larson et al., 2014). El impacto de los cambios ambientales en la MOD depende de múltiples factores, como por ejemplo, hidrológicos, morfológicos, geológicos y características de la vegetación de la zona de captación. La caracterización de la MOD y química espacial de las aguas permite comprender el impacto de la cuenca en diferentes estructuras de paisaje, incluso en ambientes acuáticos diluidos como los arroyos y lagos de montaña andino-patagónicos. Este estudio proporciona las primeras evidencias acerca del funcionamiento de los sistemas lóticos prístinos de cabecera en términos de la dinámica de la MOD y de los nutrientes, poniendo en evidencia la interacción y dependencia de éstos sistemas y la cuenca en las cabeceras de las redes fluviales andino-patagónicas. El análisis muestra claramente que los arroyos de cabecera tienen un rol de transporte de los materiales disueltos de la cuenca. Su elevada pendiente y velocidad del agua, favorecen la movilización rápida de los materiales disueltos que debido a su breve retención en el ambiente, no son transformados profundamente como para sostener la producción autóctona de los arroyos. Sin embargo, su aporte a los lagos pedemontanos se refleja en los niveles fluctuantes de aloctonía en diferentes componentes de la trama trófica pelágica a lo largo del año (Queimaliños et al., 2012).

La plasticidad de la dinámica de la transferencia de C desde la cuenca en respuesta a la estacionalidad de variables climáticas, les confiere a estos ambientes categoría de indicadores, con potencial para reflejar y amplificar los efectos de cambios sostenidos en el régimen de precipitación, de temperatura y de los niveles de radiación solar a consecuencia del cambio climático y los cambios antropogénicos (Queimaliños et al., 2012; García et al., 2015b).

Capítulo III

PROCESOS DEGRADATIVOS SOBRE LA MATERIA ORGÁNICA DISUELTA



III.1 INTRODUCCIÓN

La materia orgánica disuelta que ingresa en los ecosistemas acuáticos proviene mayoritariamente de la vegetación y los suelos de las cuencas de drenaje, y posee una historia de absorción y degradación en los suelos (Fellman et al., 2008; Jaffé et al., 2008; Huang et al., 2015). La caída de hojas en otoño es la principal fuente de sustancias orgánicas particuladas y disueltas del suelo y del agua superficial. En los suelos, los residuos de la cobertura vegetal se acumulan y transforman por la exposición a factores físicos y químicos, en general regidos por variables climáticas (temperatura, precipitación, exposición a la radiación solar, etc.) y por procesos de degradación biológica (Kalbitz et al., 2006). La MOD terrestre atraviesa por diferentes procesos en los suelos, siendo absorbida en los horizontes y mineralizada, por lo que sólo una parte llega a los sistemas acuáticos transportada por el escurrimiento superficial y sub-superficial (Kalbitz et al., 2000; Jaffé et al., 2008). El agua de las precipitaciones se enriquece de MOD al atravesar la cobertura vegetal y los horizontes del suelo (Kaiser y Kalbitz, 2012; Huang et al., 2015). Sin embargo, la cantidad y la calidad de la MOD terrestre que ingresa en los sistemas acuáticos por escorrentía varía debido a la estacionalidad de su producción, a su transformación y al transporte, tanto en los ecosistemas terrestres como en los acuáticos (Kalbitz et al., 2000; Aitkenhead-Peterson et al., 2003; Kothawala et al., 2012).

En los sistemas lóticos de cabecera el ingreso de MOD proveniente de la descomposición de las plantas y de los suelos, alimenta la respiración heterotrófica (Kaplan et al., 2008; Cory y Kaplan, 2012) y las reacciones fotoquímicas (Aiken et al., 2011; Lu et al., 2013). En conjunto, la biodegradación y la fotodegradación de la MOD producen la mineralización y la transferencia de CO₂ a la atmósfera (Butman y Raymond, 2011), y alteran el carácter de la MOD remanente, determinando su función aguas abajo (Cory y Kaplan, 2012). La acción de la radiación solar sobre la MOD produce una multiplicidad de efectos como por ejemplo la mineralización completa (que conlleva la transferencia de C a la atmósfera en forma de CO₂), la decoloración de la MOD cromofórica (MODC), la fotohumificación, la fotoproducción de nueva MOD y la formación de especies reactivas de oxígeno (ROS, por sus siglas en inglés) (Moran y Zepp, 2000; Helms et al., 2013; entre otros). Por su parte, las bacterias heterotróficas se nutren directamente de la MOD, utilizando como sustratos preferencialmente a los aminoácidos libres y los carbohidratos (Benner y Kaiser, 2011). En el conjunto de sustancias que componen la MOD, existen diferentes tipos de fuentes de carbono que varían en su labilidad a la biodegradación

bacteriana (Cory y Kaplan, 2012), considerándose a la MOD alóctona más recalcitrante que la MOD autóctona, debido a su mayor contenido de compuestos aromáticos (Jaffé et al., 2008; Catalán et al., 2013; Lu et al., 2013; Helms et al., 2014).

La fotodegradación y biodegradación son procesos que co-ocurren, pudiendo sinergizarse. En este sentido, dependiendo del origen de la MOD, la fotoexposición puede disminuir, incrementar o bien no tener ningún efecto sobre su biodegradabilidad (Moran y Zepp, 2000; Chen y Jaffé, 2014; Moran et al., 2000; Vähätalo y Wetzel, 2008). Algunos materiales recalcitrantes provenientes del ambiente terrestre (p.e., ácidos húmicos) aumentan su biodisponibilidad cuando se los expone a la RUV (“*priming effect*”) (Moran y Covert, 2003; Abboudi et al., 2008; Fasching y Battin, 2012), debido a que se generan compuestos de bajo peso molecular (p.e., acetato) fácilmente asimilables por las bacterias (Fellman et al., 2013). Sin embargo, también se ha observado el efecto contrario, las fuentes más lábiles de MOD, como por ejemplo los exudados de algas, se tornan menos disponibles para la biodegradación después de la exposición a la radiación debido a la formación de productos recalcitrantes (p.e., peróxido de hidrógeno) que reducen el crecimiento bacteriano (Fellman et al., 2013). La sumatoria de los diferentes niveles que estos procesos de fotodegradación y biodegradación de la MOD pueden alcanzar en un ambiente dado, genera una condición ecosistémica única que tiene implicancias en el ciclado de elementos y nutrientes, en la determinación de las comunidades y de la complejidad de la trama trófica.

En los arroyos andino estudiados las principales fuentes de MOD alóctona son la vegetación y los suelos de la cuenca, como se indicó en el Capítulo I. Durante el otoño, las hojas del bosque nativo caducifolio (*Nothofagus pumilio*, lenga) aportan un pulso de materia orgánica fresca a los suelos que se refleja en los pulsos de MOD movilizada por las precipitaciones hacia arroyos. En este capítulo se aborda experimentalmente el aporte MOD del suelo y de la biomasa (hojas) de lenga por lixiviación, bajo la premisa que estas son las principales fuentes de materia orgánica alóctona que alimentan la red fluvial que drena la cuenca del complejo lacustre Moreno. Para ello se analiza el aporte cuali-cuantitativo de MOD (hidrosoluble) de ambas fuentes, la reacción de la MOD frente procesos de biodegradación y fotodegradación, como así también el impacto de la fotoxidación en agua natural de un arroyo de la cuenca. A través de estudios combinados de espectroscopía óptica y de fluorescencia y mediante análisis de factores paralelos

(PARAFAC) se determinan las huellas espectrales de las diferentes fuentes alóctonas de MOD, de la MOD del arroyo De la Virgen, y de los procesos de degradación.

III.2 OBJETIVO GENERAL

Analizar y comparar empíricamente la transformación de la MOD proveniente del suelo y de la hojarasca por acción de microorganismos y de la exposición a la radiación solar.

III.2.1 Objetivos particulares

- 1-Analizar y comparar mediante incubaciones experimentales de laboratorio la transformación de la MOD proveniente de lixiviados de hojas de lenga y de suelo por la acción de su microbiota bacteriana asociada.
- 2-Analizar y comparar experimentalmente la transformación de la MOD proveniente del arroyo De la Virgen y de lixiviados de hojas de lenga y de suelo, inducida por un espectro de luz que simula la radiación solar, combinando radiación fotosintéticamente activa (PAR), UVA y UVB.

III.2.2 Hipótesis y predicciones

- 1-La MOD proveniente del lixiviado de los suelos de la cuenca y de la hojarasca presenta diferencias en cuanto a composición, es por ello que la MOD de dichos lixiviados presentará firmas espectrales particulares y discernibles una de otra.
- 2-El origen y la composición de la MOD determinan distintos grados de vulnerabilidad frente a los procesos de degradación. Se predice que la MOD proveniente de la hojarasca presentará menor resistencia frente a la fotodegradación y a la biodegradación en comparación con los lixiviados de suelo.
- 3-La MOD proveniente de los lixiviados de los suelos y de la hojarasca es representativa de la MOD natural de los arroyos. Por lo tanto, los fluoróforos de la MOD proveniente de las hojas, suelos y agua natural en diferentes estados diagenéticos serán redundantes y similares a los componentes de la MOD detectados en los arroyos en el estudio estacional presentado en el Capítulo I.

III.3 MATERIALES Y MÉTODOS

III.3.1 Colecta de material para los experimentos

Para el estudio empírico planteado, en febrero y abril de 2013 se colectaron ocho muestras de suelo de la cuenca del complejo lacustre Moreno en zonas aledañas al arroyo Casa de Piedra. Estos sitios, comprendidos entre los 900 y 1600 m s.n.m., fueron elegidos por su predominio de lenga (*N. pumilio*). Las muestras de suelo se obtuvieron por remoción de una superficie de 15x15 cm y 3 cm de profundidad. Cada muestra se dispuso en una bolsa plástica hermética y se transportó al laboratorio en oscuridad y con aislación térmica, conservándose posteriormente a -8 °C hasta el inicio de las incubaciones experimentales (mayo del 2015).

Por otra parte, se colectaron hojas de lenga al inicio del otoño de 2015 sobre una ladera del cerro Otto (S. C. de Bariloche) debido a la dificultad para acceder durante el otoño a los bosques de lenga riparios de la cuenca del complejo lacustre Moreno. Las hojas se colectaron directamente del árbol para estandarizar su grado de senescencia. Se evitó la colecta de hojas depositadas en el suelo debido a que allí se observa una superposición de material proveniente de diferentes temporadas, el cual influye sobre la calidad de los lixiviados (Don y Kalbitz, 2005). Las hojas colectadas se colocaron en bolsas plásticas con cierre hermético y se transportaron al laboratorio en oscuridad y con aislación térmica. Una vez en el laboratorio, el material se colocó una capa fina de material sobre una tela sintética porosa (fiselina) y se mantuvo a temperatura ambiente (~20 °C) durante 10 días a fin de eliminar naturalmente la humedad del material.

III.3.2 Extracción de MOD proveniente de suelo y hojas por lixiviación

Para la obtención de los lixiviados se utilizaron las hojas de lenga previamente deshidratadas en el laboratorio y las muestras de suelo preservadas en el freezer (-18 °C), las cuales fueron descongeladas y secadas a temperatura ambiente (~20 °C) hasta peso constante. Una vez secas, las muestras de suelo fueron homogeneizadas y tamizadas para eliminar los materiales mayores a 0.1 cm, excluyéndose de la muestra las piedras, hojas y raíces. La lixiviación de las muestras de suelo y hojas se realizó por triplicado en recipientes de vidrio de 2.5 L de capacidad lavados con HCl al 10%. En cada contenedor se colocó 12.5 g de material seco (suelo y hojas por separado) y 2.5 L de agua ASTM grado 1 (MilliQ), respetando la proporción de 1 g de muestra por cada 200 ml de agua (**Fig. III.1**). Las unidades experimentales se incubaron durante 48 horas, en oscuridad en una cámara de cultivo Sanyo MLR5, agitándose

mediante una varilla de vidrio cada 12 horas. El tratamiento control consistió en 2.5 L de agua MilliQ en idénticos contenedores sin el agregado material. La temperatura de incubación se estableció en 10°C, temperatura promedio de otoño en la cuenca del complejo lacustre Moreno.

Una vez concluidas las 48 hs de incubación, se filtró el volumen total de los batch a través de filtros pre-muflados Munktell MFF de 0.7 µm de tamaño de poro a fin de eliminar el material particulado, y obtener la MOD liberada por lixiviación con su microbiota asociada para realizar el experimento de biodegradación detallado más abajo. Cabe aclarar que la exclusión de bacterias por la filtración sería mínima dado que la talla de la mayoría de las bacterias se encuentra por debajo de los 0.7 µm, aunque sus tamaños pueden rondar entre los 0.3 y 5.0 µm (Madigan et al., 2009).

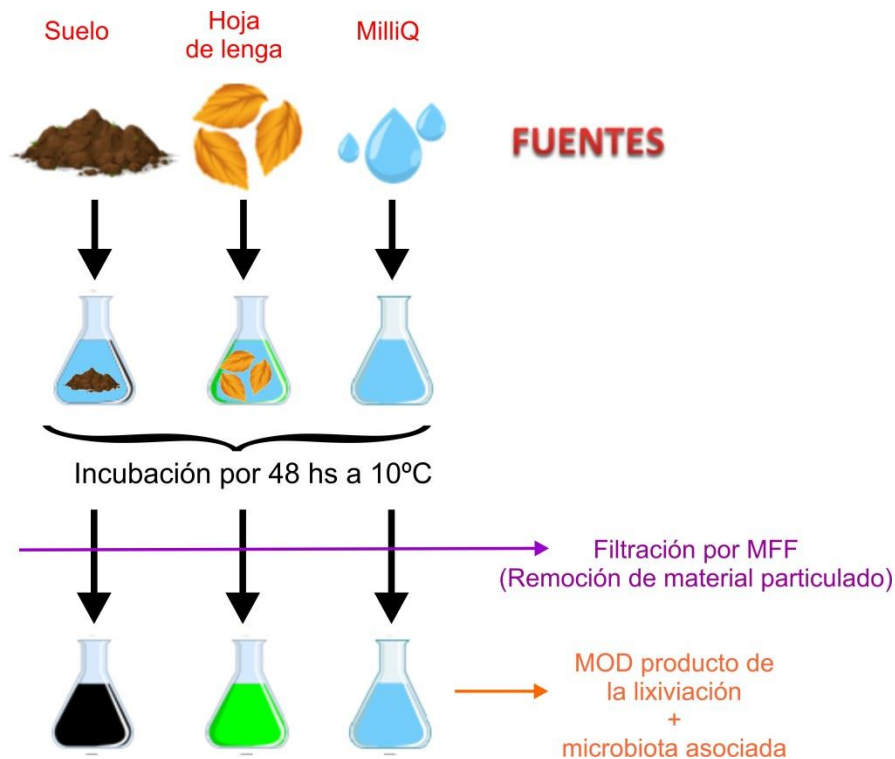


Figura III.1. Esquema de las extracciones de laboratorio de materia orgánica disuelta por lixiviación de hojas de lenga y suelo en agua ASTM 1 (MilliQ).

III.3.3 Experimentos de laboratorio

III.3.3.1 Experimentos de biodegradación de la MOD sobre productos de lixiviación

Con la finalidad de analizar la transformación de la MOD por acción de la microbiota bacteriana en el tiempo, se realizó un experimento factorial 2x2 (**Tratamiento 1**: origen de la MOD, 2 niveles: MOD lixiviada de hojas de lenga y MOD lixiviada de suelo; **Tratamiento 2**: tiempo de incubación; 9 niveles: 0, 2, 4, 6, 8, 12, 18, 24 y 30 días) (**Fig. III.2**). Con esta finalidad, los lixiviados del suelo y las hojas fueron fraccionados en erlenmeyers conteniendo un volumen final de 250 ml, los que fueron utilizados como unidades experimentales para los experimentos de biodegradación. El ensayo consistió en la incubación por separado de MOD lixiviada del suelo y de las hojas de lenga, filtrada a través de filtros MFF (<0.7 µm) con su microbiota bacteriana asociada. El ensayo tuvo una duración de 30 días, retirándose unidades experimentales a 9 tiempos de incubación. Se incluyó además un control de agua MilliQ para monitorear las condiciones de base de todos los parámetros a lo largo del experimento. Estos controles no se tuvieron en cuenta en los análisis estadísticos, aunque en algunos casos se presentan en los gráficos como referencia. La inclusión del control en el estudio experimental respondió a la necesidad de mantener un sistema “blanco”, con fines de calibración analítica. Se prepararon un total de 54 unidades experimentales, 27 por cada lixiviado (hojas y suelo) y 9 unidades para los controles de agua ASTM 1 (MilliQ). Las unidades experimentales se colocaron en una cámara de incubación (Sanyo MLR5) a 10 °C y en oscuridad. Al inicio del experimento (tiempo 0) se retiraron 3 unidades experimentales por cada tratamiento y un control de agua MilliQ para establecer las condiciones de base y con fines de calibración, como se mencionó anteriormente. Se aplicó el mismo procedimiento de muestreo en los tiempos de incubación subsiguientes (**Fig. III.2**).

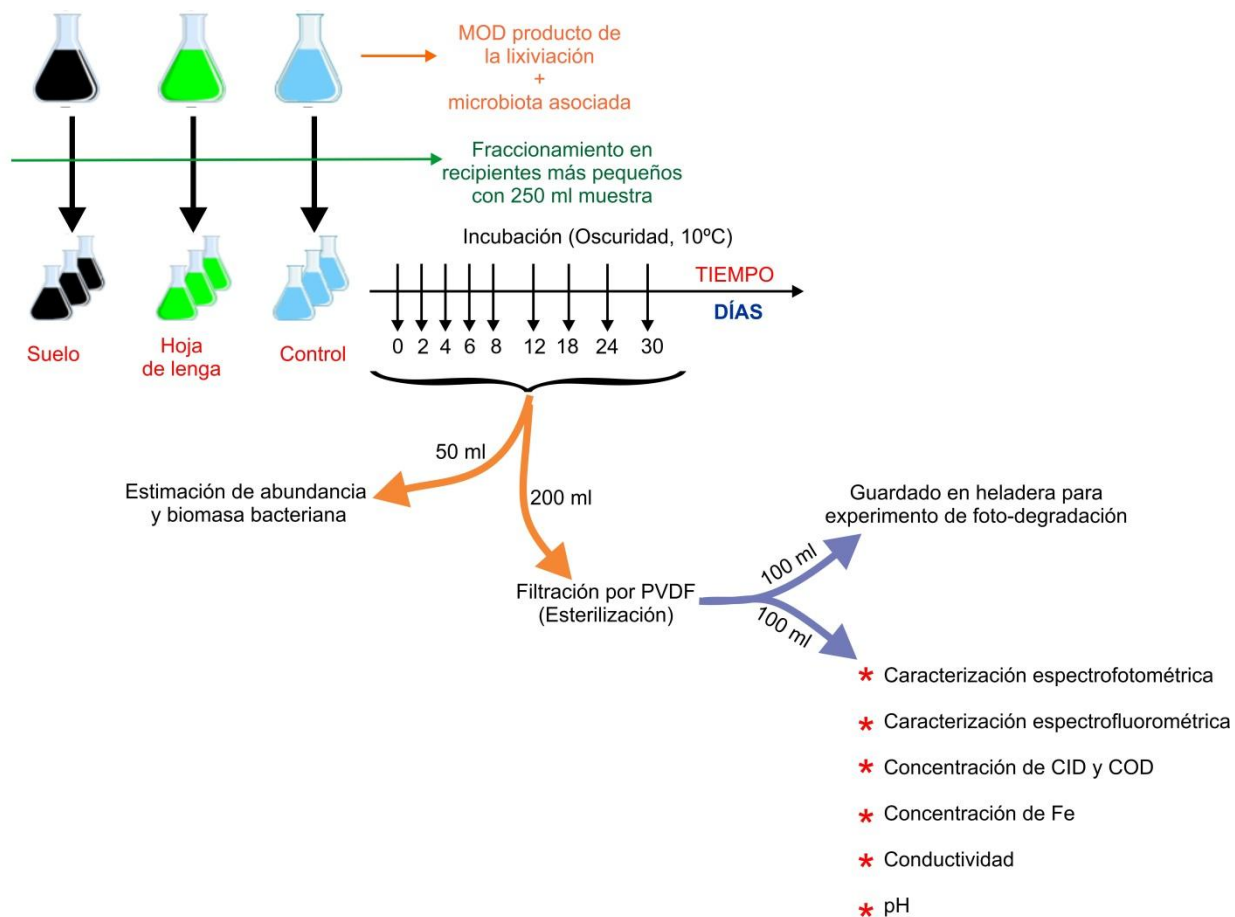


Figura III.2. Esquema del experimento de biodegradación de la MOD de lixiviados de hojas y suelo.

De cada unidad experimental se separaron 50 ml de agua para la determinación de abundancia y biomasa bacteriana según la metodología que se describe más abajo. El volumen restante de cada unidad experimental fue esterilizado por filtración a través de membrana PVDF (0.22 μm). Un volumen de 100 mL fue utilizado para los análisis físico-químicos y espectroscópicos correspondientes a cada tiempo de incubación, mientras que los restantes 100 mL fueron conservados en frascos ámbar estériles a 5 °C para ser utilizados posteriormente en los experimentos de fotodegradación (**Fig. III.2**) (ver punto III.3.3.2 Experimentos de fotodegradación de la MOD).

El agua estéril proveniente de cada unidad experimental y de los controles fue analizada, determinándose su conductividad, pH y concentración de COD y CID. Asimismo, se analizó cada

réplica mediante espectroscopía obteniéndose los parámetros de la MODC (espectroscopía de absorción) y MODF (espectroscopía de fluorescencia) detallados en la sección de Materiales y Métodos Generales. Las mediciones de MODC y de MODF sobre el lixiviado de hojas se realizó sobre una dilución 1:25 (lixiviado:agua MilliQ), ya que las concentraciones de COD mayores a 10 mg/L interfieren la lectura espectroscópica debido a un efecto de filtro interno (Baker, 2001; Hur et al., 2007). Para descartar este efecto sobre la dilución utilizada, se realizó la corrección de los espectros sincrónicos de fluorescencia en algunas muestras elegidas al azar siguiendo la metodología de Ferrari y Mingazzini (1995). La comparación de los espectros sincrónicos de fluorescencia de las muestras corregidas y sin corrección reveló similitud, por lo tanto, se decidió trabajar con los espectros originales sin corregir. La intensidad de la fluorescencia se estandarizó al pico de emisión Raman del agua siguiendo a Baker (2001). La intensidad de emisión del Raman a 398 nm fue 15.8 ± 0.3 unidades de intensidad (unidad arbitraria).

Debido a que la interacción del hierro (Fe) con la materia orgánica influye en las propiedades ópticas de la MOD (Aiken, 2014; Poulin et al., 2014), se realizó la determinación de la concentración de hierro (Fe) en las muestras iniciales (tiempo 0) mediante el método FerroVer (APHA, 2005). La concentración de Fe en todos los casos estuvo por debajo de los límites de interferencia con la MOD (0.1 mg/L), descartándose entonces el efecto de interferencia del Fe en las mediciones espectroscópicas.

La muestra de 50 ml colectada para la estimación de las bacterias en cada unidad experimental a lo largo del experimento, fueron preservadas con glutaraldehído 1% y posteriormente se filtraron a través de filtros negros de 0.22 μm (Millipore) y se tiñeron con 5 mg/mL (concentración final) de DAPI (4', 6-diamidino-2-fenilindol) (Porter y Feig, 1980). Los filtros fueron colocados sobre portaobjetos utilizando aceite de inmersión para microscopía de fluorescencia, conservándose luego a -18°C . Las muestras se analizaron bajo una magnificación de 1000X, en un microscopio de epifluorescencia (Olympus BX50) equipado con una lámpara HBO 50 y un filtro UV. El estudio de la microbiota bacteriana se realizó en colaboración con la Dra. Marina Gereá, becaria postdoctoral CONICET (Lab. de Fotobiología) quien posee experiencia en ecología microbiana.

El tamaño promedio de las células bacterianas fue medido sobre imágenes obtenidas de los filtros de color negro. Se capturaron alrededor de 15 imágenes por cada filtro. Las imágenes se analizaron con el software Image Pro Plus 4.5, siguiendo el procedimiento descrito por Massana

et al. (1997). El biovolumen fue transformado a biomasa de carbono utilizando la fórmula propuesta por Norland (1993) derivada de Simon y Azam (1989):

$$\text{pg C/célula} = 0.12 \text{ pg } (\mu\text{m}^3/\text{célula})^{0.7}$$

Finalmente, la biomasa de carbono por célula (pg C/célula) fue multiplicada por la abundancia de bacterias en cada muestra (célula/mL) para obtener la biomasa bacteriana (pg C/mL).

III.3.3.2 Experimentos de fotodegradación de la MOD

Para analizar la fotodegradación de la MOD se realizaron ensayos en dos condiciones de radiación contrastantes (luz-oscuridad), utilizando por separado la MOD proveniente de lixiviados de hojas y suelo, acondicionada por la microbiota asociada durante el experimento de biodegradación (ver síntesis en **Fig. III.2**). Asimismo, se incluyó una serie experimental similar con MOD proveniente del arroyo De la Virgen, de una muestra de agua colectada en el mes de julio de 2015. Este último ensayo, se realizó a fin de determinar el efecto de la fotodegradación sobre la concentración y calidad de la MOD en niveles naturales de los arroyos (A° De la Virgen, en este caso).

Las muestras de los lixiviados de suelo reservadas en las diferentes fechas (**Fig. III.2**), fueron integradas para generar el volumen de lixiviado necesario para realizar el experimento de fotodegradación, registrándose una concentración de COD de ~4 mg/L. En el caso de los lixiviados de hojas se utilizaron las muestras integradas de las tres primeras fechas de incubación. Todos los sustratos, incluyendo el agua natural del A° De la Virgen, se esterilizaron por filtración (PVDF; 0.22 μm). En el caso del lixiviado de hojas (con una concentración de COD 218.5 mg/L) se diluyó la muestra con agua MilliQ hasta lograr una concentración similar a la del lixiviado de suelo (~4 mg/L) y así evitar diferencias en la respuesta a la radiación debidas a un efecto de filtro interno (la absorción de la luz es dependiente de la concentración del COD). El experimento consistió en la exposición de los tres sustratos diferentes (lixiviado de hojas de lenga y de suelo y agua natural del A° De la Virgen) en dos tratamientos de luz (PAR+UVA+UVB y oscuridad). La duración de los ensayos fue de 72 hs exponiéndose a un fotoperíodo de 14 hs luz (PAR+UVA+UVB) y 10 hs de oscuridad, a 20 °C en una cámara de incubación (Sanyo MLR 350) (**Fig. III.3**). Debido a que los tubos de luz, especialmente los tubos Q-panel que proveen el

UVA y UVB, generan calor dificultando la regulación térmica de la cámara de incubación a bajas temperaturas, el experimento se realizó a 20 °C. Cada tratamiento de sustrato y de luz se llevó a cabo con 5 réplicas, totalizando 30 unidades experimentales. Las unidades experimentales correspondientes al tratamiento con luz PAR+UVA+UVB (15) se montaron en tubos de cuarzo (30 mL) que permiten la penetración de ~100% de la radiación incidente. Las unidades experimentales correspondientes al tratamiento en oscuridad (15) se montaron en tubos de vidrio de 30 mL, los cuales fueron envueltos en papel aluminio para impedir la penetración del PAR (el vidrio filtra las fracciones de la RUV). Las unidades experimentales correspondientes al tratamiento PAR+UVA+UVB fueron colocados en un sistema de rotación vertical funcionando a una velocidad de 1 rpm a fin de lograr una exposición homogénea de cada unidad experimental. La fuente de radiación utilizada consistió en un arreglo de 10 tubos PAR, 2 tubos UVA (Q-panel 340) y 1 tubo UVB (Q-panel QFS40) que suministró una dosis diaria de $75.71 \mu\text{Em}^{-2} \text{ s}^{-1}$ de PAR, 61.92 kJm^{-2} de UVA y 9.17 kJm^{-2} de UVB (dosis medida con un espectroradiómetro Ocean Optics, USB).

Al final de la incubación, se retiraron los tubos de la cámara y se midió en cada unidad experimental el pH, la conductividad, las concentraciones de COD y de CID, y se realizaron los análisis espectrofotométricos y espectrofluorométricos correspondientes (ver sección de Materiales y Métodos Generales).

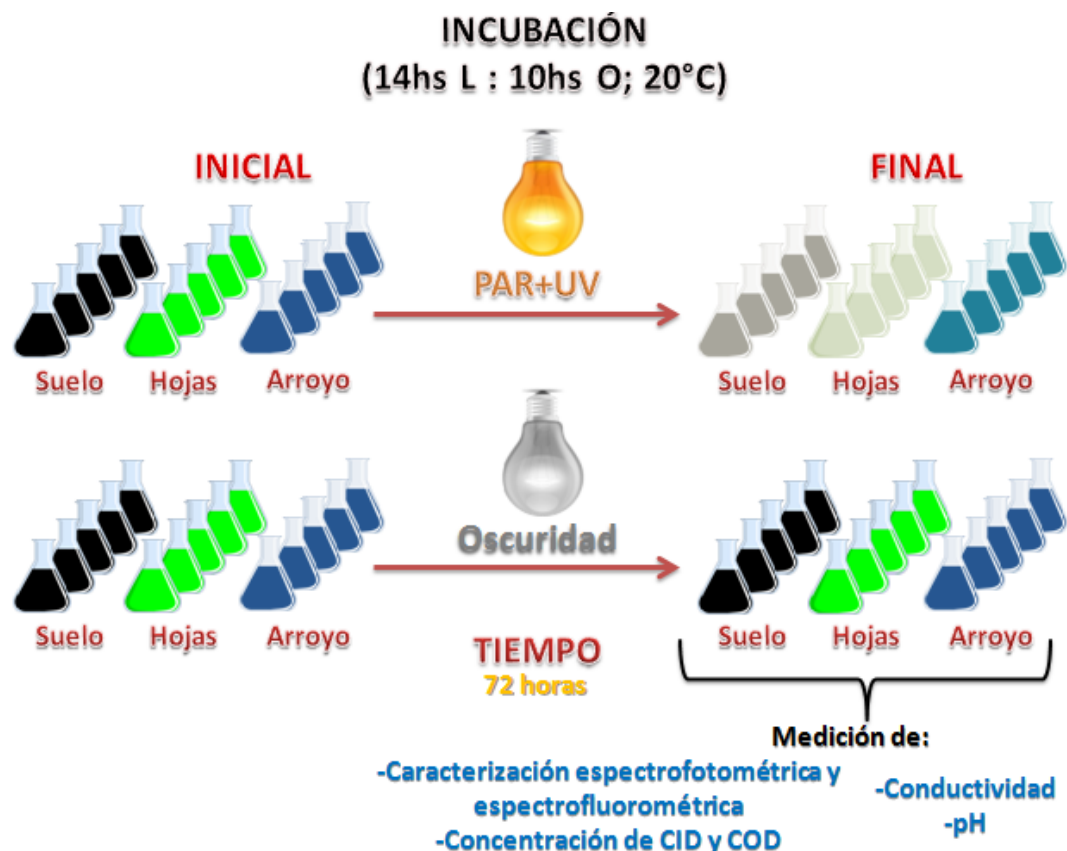


Figura III.3. Esquema del experimento de foto-degradación de la materia orgánica disuelta proveniente de lixiviados de suelo, de hojas, y agua natural del arroyo De la Virgen.

III.3.4 Análisis estadístico de los resultados experimentales

Los datos resultantes de los experimentos de biodegradación y fotodegradación fueron analizados mediante los programas Excel 2003, SigmaPlot 10.0 y SigmaStat 3.5. Para detectar diferencias entre los distintos tratamientos, en los experimentos de biodegradación y de fotodegradación, se aplicó análisis de la varianza de 2 vías (ANOVA de 2 vías) para los diferentes parámetros medidos y un análisis *a posteriori* (prueba *post hoc* de Holm-Sidak), cuando correspondía. Se comprobó la normalidad y homocedasticidad de los datos mediante las pruebas *Normality Test* y *Equal Variance Test*, respectivamente. En los casos en que los datos no pudieron normalizarse o bien falló la ecualización de su varianza mediante transformaciones matemáticas, se procedió a la transformación en rangos y luego se realizó el ANOVA sobre los rangos (Zar, 1999). En todos los casos, el nivel de significancia de los análisis fue del 5% ($\alpha = 0.05$). Debido a que los datos de las variables medidas a lo largo de los experimentos no pasaron el supuesto de normalidad, se ranquearon para aplicar luego el análisis de la variancia de dos vías

(Zar, 1999). Este último procedimiento permite aplicar análisis de la varianza paramétricos para evaluar los efectos de los factores principales, sin embargo, no permite analizar la interacción entre los factores principales (Blair et al., 1987; Thompson, 1991a y b).

III.3.4.1 Modelado con PARAFAC

El análisis de las matrices de excitación-emisión EEMs obtenidas de cada una de las unidades experimentales de los ensayos de biodegradación sobre los lixiviados (diferentes días de incubación) y fotodegradación (inicial y final) sobre lixiviados y agua del A° De la Virgen, se realizó mediante un análisis de factores paralelos (PARAFAC) detallado en la sección de materiales y métodos generales. En este caso, el análisis incluyó 79 EEMs obtenidas mediante el método de Murphy et al. (2010) modificado.

III.4 RESULTADOS

III.4.1 Experimentos de biodegradación

La misma cantidad de material de suelo y hojas (12.5 g de material seco en 2.5 L de agua MilliQ), produjeron lixiviados diferentes en cuanto a cantidad (**Fig. III.4**) y calidad (**Fig. III.5**) de carbono. La concentración de COD obtenida fue mayor en los lixiviados de hojas (300 mg/L) que en los lixiviados de suelo (5 mg/L) (**Fig. III.4a**). Durante los días de incubación se observó un descenso pronunciado y significativo en el COD en los lixiviados de hojas pasando de una concentración inicial de ~300 mg/L hasta una concentración final de ~145 mg/L (**Fig. III.4a; Tabla III.1**). En el caso de los lixiviados de suelo, la disminución del COD se produjo en los dos primeros días de incubación pasando de una concentración inicial de ~5 mg/L a una concentración de ~4 mg/L. El día 4 de incubación se observó un incremento en la concentración de COD llegando a valores de 5.75 mg/L, descendiendo luego hasta ~4mg/L y manteniéndose alrededor de ese valor hasta el final del ensayo (**Fig. III.4a**). El CID en los lixiviados de hojas presentó valores entre 0.3-0.4 mg/L durante los primeros 8 días de incubación, incrementando su concentración durante el resto del mes hasta alcanzar los 3.9 mg/L al final del experimento. En los lixiviados de suelo el CID permaneció estable, variando entre 0.6 y 0.8 mg/L (**Fig. III.4b**).

Tabla III.1. Resultados de los Analisis de la Varianza de 2 vías (ANOVA de 2 vías) para diferentes parámetros medidos en los experimentos de biodegradación de la MOD proveniente de hojas y suelo. Tratamiento 1: origen del lixiviado (Niveles: Suelo y Hojas); Tratamiento 2: tiempo de incubación (Niveles: 9 tiempos 0, 2, 4, 6, 8, 12, 18, 24 y 30 días) (* = $p < 0.001$).

Parámetro	Factor	F
Conductividad	Tratamiento	419.118 *
	Tiempo	6.401 *
	Tratamiento * Tiempo	6.511 *
pH	Tratamiento	756.198 *
	Tiempo	216.665 *
	Tratamiento * Tiempo	177.300 *
COD	Tratamiento	87012.454 *
	Tiempo	96.469 *
	Tratamiento * Tiempo	23.267 *
CID	Tratamiento	45.865 *
	Tiempo	99.414 *
	Tratamiento * Tiempo	112.603 *
Abundancia bacteriana	Tratamiento	117.489 *
	Tiempo	20.120 *
	Tratamiento * Tiempo	15.214 *
Biomasa bacteriana	Tratamiento	242.633 *
	Tiempo	23.607 *
	Tratamiento * Tiempo	12.063 *
a ₂₄₅ /COD	Tratamiento	1567.837 *
	Tiempo	60.449 *
	Tratamiento * Tiempo	17.751 *
a ₃₅₀ /COD	Tratamiento	1097.443 *
	Tiempo	98.758 *
	Tratamiento * Tiempo	42.525 *
a ₄₄₀ /COD	Tratamiento	729.862 *
	Tiempo	198.355 *
	Tratamiento * Tiempo	121.091 *
S _R	Tratamiento	1309.166 *
	Tiempo	182.084 *
	Tratamiento * Tiempo	219.248 *

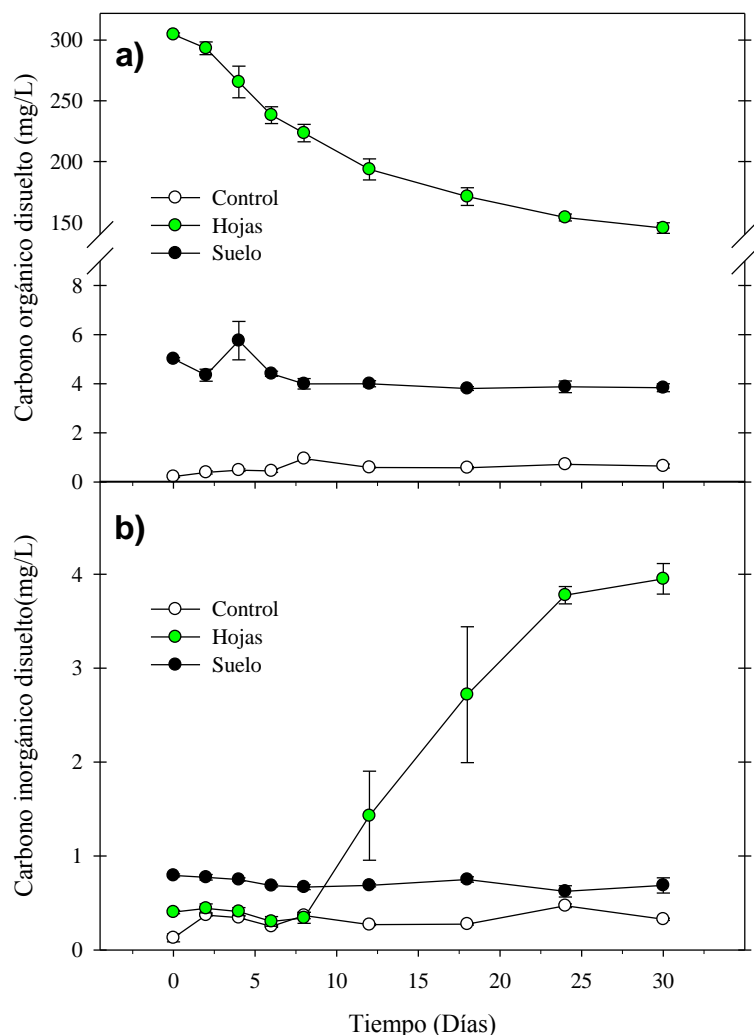


Figura III.4. Cambios en la concentración de a) carbono orgánico disuelto (COD) y b) carbono inorgánico disuelto (CID), en función del tiempo en los experimentos de biodegradación de lixiviados de suelo y hojas (promedio \pm desvío estándar, $n = 3$). El control consiste en la incubación de agua ASTM1 (MilliQ) utilizada como blanco analítico.

Los espectros sincrónicos de fluorescencia medidos con un $\Delta\lambda = 80$ nm (sincrónico de 80) evidenciaron la diferencia en la calidad de MOD obtenida de los lixiviados de las hojas y del suelo (**Fig. III.5**). En el caso de los lixiviados de las hojas, los espectros sincrónicos presentaron un patrón caracterizado por la presencia de dos máximos de fluorescencia definidos, correspondientes a dos intervalos de excitación: 260-285 nm y 315-330 nm e identificados como: Máx270 y Máx320. La comparación de estos espectros sincrónicos con los componentes citados en la literatura permitió inferir que el Máx270 se corresponde con el pico T, el Máx320 con el

pico M, de acuerdo a la descripción tradicional de Coble (1996). Los espectros sincrónicos obtenidos de los lixiviados de suelos presentaron sus mayores intensidades en el intervalos de excitación 340-360 nm identificado como Máx350 (pico C), seguido por el Máx320 (pico M), y por muy baja concentración en el Max270 (pico T) (**Fig. III.5**). Se observó que las hojas lixiviaron MOD compuesta por pico T (proteico) y por pico M (origen microbiano), mientras que en los lixiviados de suelo dominaron los picos C y M (**Fig. III.5**).

En el caso de los lixiviados de hojas, las intensidades del pico T y del pico M disminuyeron con el correr de los días, reduciéndose en un ~65% al final del experimento (**Fig. III.5**). Llamativamente, luego del día 12 se registró un leve aumento de la fluorescencia en la región 360-400 nm, correspondiente a la zona del pico C (**Fig. III.5**). En los lixiviados de suelo tanto el pico C como el pico M mantuvieron sus intensidades relativamente estables a lo largo del experimento. Si bien se observó algo de intensidad en la región del pico T al inicio de la incubación, este pico desapareció al día 6 (**Fig. III.5**).

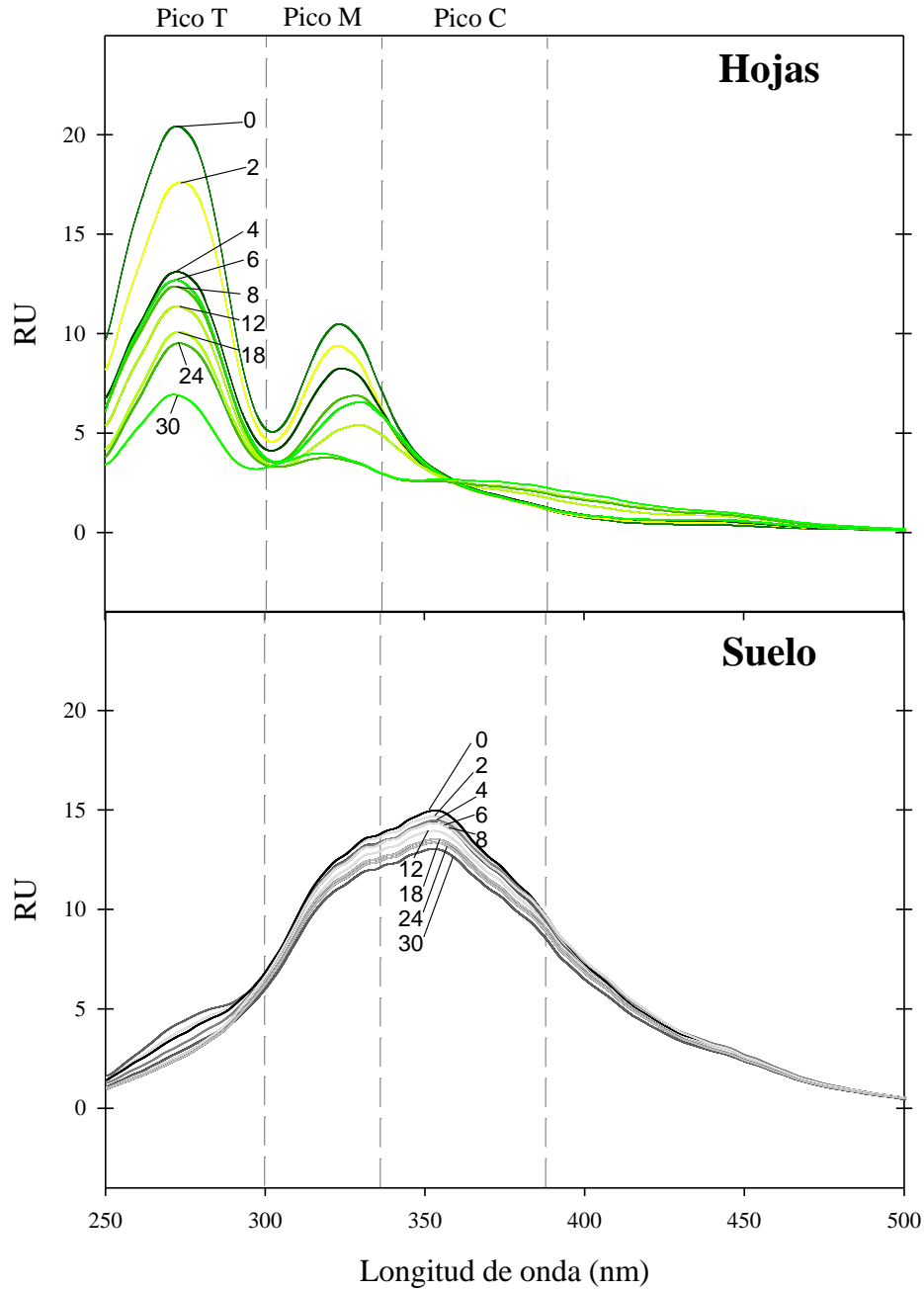


Figura III.5. Intensidad de la fluorescencia de los espectros sincrónicos ($\Delta\lambda = 80$ nm) en los diferentes sustratos (lixiviados de hojas y suelo) durante el mes de incubación. Las líneas en la gama del verde corresponden a los lixiviados de hojas y las líneas en la gama del gris corresponden a los lixiviados de suelo. Las líneas punteadas delimitan las zonas de fluorescencia de los picos. Los números sobre las curvas indican el tiempo de incubación en días.

Los lixiviados de hojas presentaron inicialmente menor abundancia de bacterias que los lixiviados de suelo, sin embargo en el transcurso de la incubación su crecimiento fue exponencial, alcanzando valores dos órdenes de magnitud más altos (**Fig. III.6a**). Por su parte, los lixiviados de suelo, inicialmente con mayor abundancia de bacterias, mantuvieron abundancias relativamente estables durante toda la incubación, fluctuando en el mismo orden de magnitud (**Fig. III.6a y b; Tabla III.1**). En términos generales, la biomasa de carbono de las bacterias en los lixiviados fluctuó ampliamente en el tiempo y de manera concomitante con la abundancia (**Fig. III.6a y b; Tabla III.1**). En los lixiviados de suelo la abundancia y biomasa inicial de bacterias fue de $\sim 1.5 \times 10^6$ cel./mL y $\sim 2.7 \times 10^4$ pgC/mL respectivamente, incrementándose en tan sólo 2 días hasta alcanzar un máximo de $\sim 4.7 \times 10^6$ cel./mL y $\sim 7.8 \times 10^4$ pgC/mL. Entre el segundo y cuarto día de incubación se produjo una importante mortandad de bacterias, que se reflejó en la disminución de su abundancia y biomasa ($\sim 2.9 \times 10^6$ cel./mL y $\sim 4.7 \times 10^4$ pgC/mL, respectivamente). Los descensos en abundancia y biomasa se mantuvieron hasta el sexto día de incubación y en el resto del experimento la abundancia se mantuvo entre los ~ 3.2 a 4.0×10^6 cel./mL, mientras que la biomasa osciló entre ~ 5.1 y 6.5×10^4 pgC/mL. En los lixiviados de hojas, la abundancia inicial de bacterias fue de $\sim 3.9 \times 10^4$ cel./mL con una biomasa de $\sim 1.2 \times 10^3$ pgC/mL. Estos valores se incrementaron fuertemente hasta alcanzar al sexto día los $\sim 1.36 \times 10^8$ cel./mL, y un máximo de biomasa de $\sim 6.4 \times 10^6$ pgC/mL. En las últimas dos semanas de incubación tanto la abundancia como la biomasa de bacterias de los lixiviados de hojas descendieron en forma sostenida hasta valores finales de $\sim 6.6 \times 10^7$ cel./mL y $\sim 1.8 \times 10^6$ pgC/mL, respectivamente.

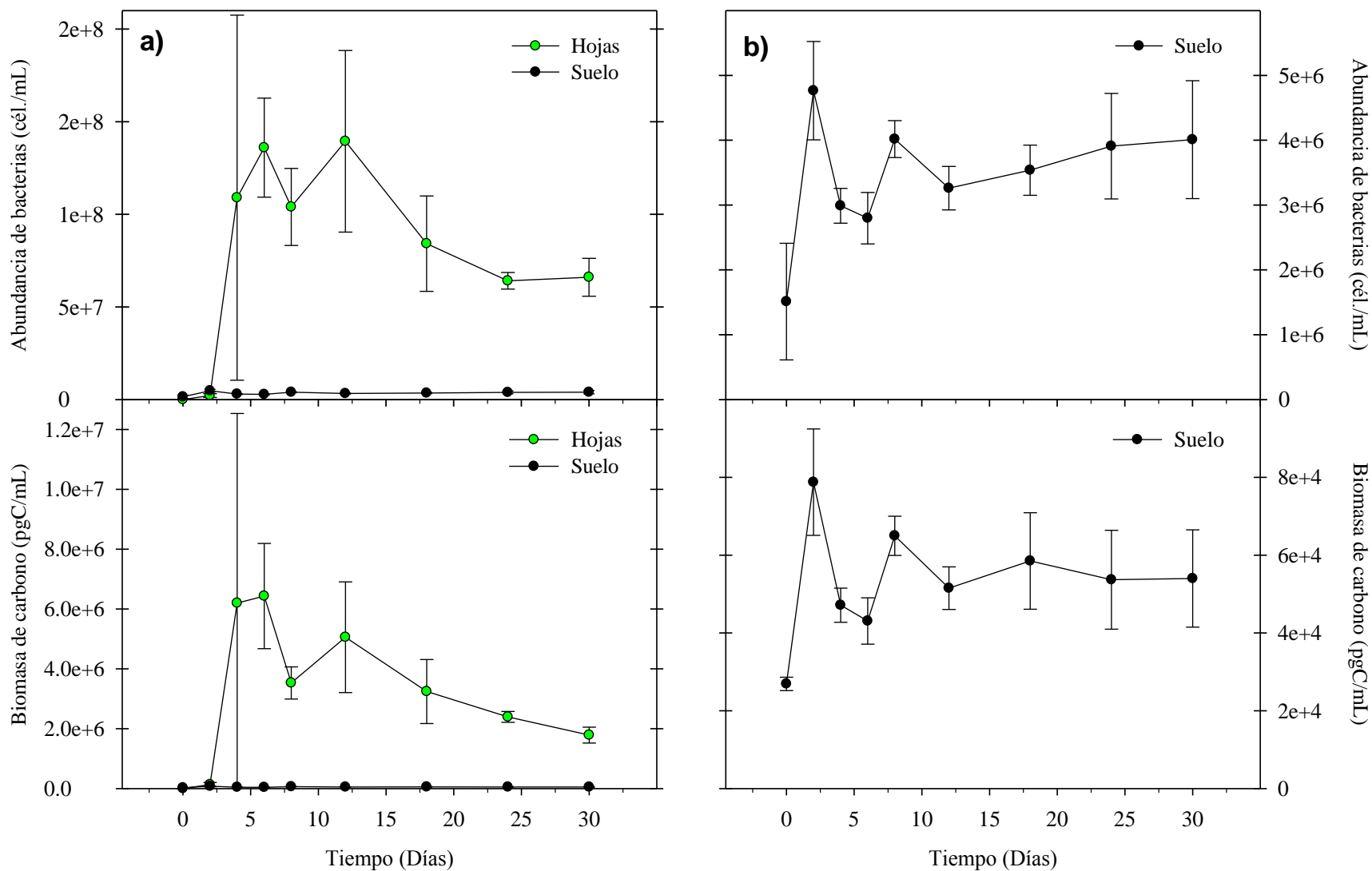


Figura III.6. Cambios en la abundancia y en la biomasa de carbono de las bacterias en función del tiempo de incubación de los lixiviados de hojas y de suelo. a) Lixiviados de hojas y suelo en la misma escala. b) Detalle del lixiviado de suelo.

Tanto la conductividad como el pH presentaron diferencias significativas en los tratamientos y en el tiempo (**Tabla III.1**). La tendencia general observada fue una mayor conductividad y mayor variación en los lixiviados de hojas que en los lixiviados de suelo. En este sentido, los lixiviados de suelo presentaron valores cercanos a los 15 μS a lo largo de todo el experimento, mientras que los lixiviados de hojas presentaron valores de conductividad alrededor de los 125 μS al inicio (t_0), decreciendo hasta llegar a los 95 μS al final de la incubación (**Fig. III.7a**).

En términos generales se observó que, hasta el día 10, el pH fue mayor en el lixiviado de suelo, seguido por el de hojas. A partir de esa fecha se observó un cambio en el patrón del pH, registrándose valores más altos de pH en el lixiviado de hojas, seguido por el suelo. Los lixiviados de suelo presentaron valores estables de pH ~ 6.5 durante toda la incubación, mientras que los lixiviados de hojas fluctuaron desde valores de pH cercanos a 5 al inicio, incrementándose hasta ~ 7.3 al final de la incubación con un patrón similar al observado para el CID (**Figs. III.4b; III.7b; Tabla III.1**).

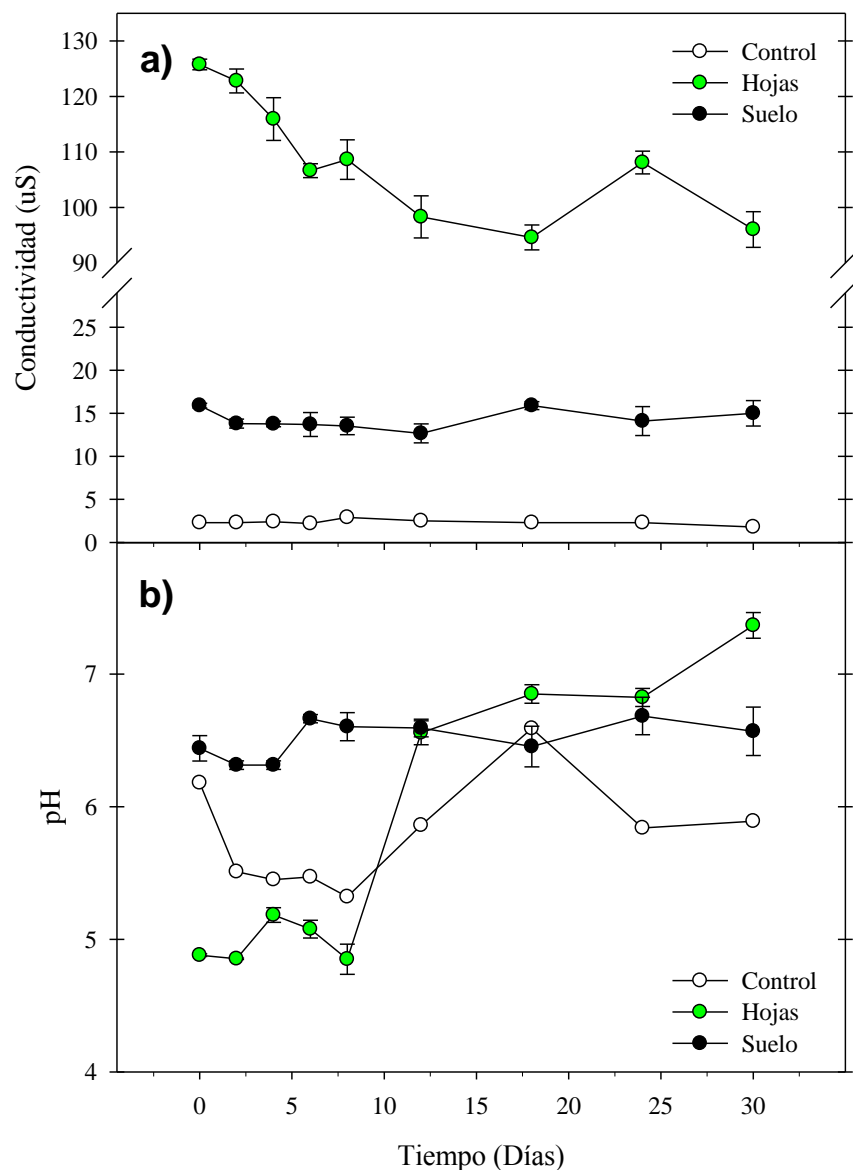


Figura III.7. Fluctuaciones de la a) conductividad y b) del pH en las incubaciones de los lixiviados de hojas y suelo a lo largo del experimento de biodegradación (promedio \pm desvío estándar, $n = 3$). El control consiste en la incubación de agua ASTM1 (MilliQ) utilizada como blanco analítico.

El análisis de los índices calculados a partir de los análisis espectrofotométricos de la MODC y MODF reveló diferencias significativas entre los tratamientos (**Tabla III.1**). Los tres coeficientes de absorción normalizados por la concentración de COD presentaron un patrón de variación similar en el tratamiento de suelo (**Fig. III.8**). El coeficiente a_{254}/COD o SUVA_{254} presentó un valor inicial de $5.94 \text{ L mg}^{-1} \text{ m}^{-1}$, aumentando levemente hasta alcanzar los $6.77 \text{ L mg}^{-1} \text{ m}^{-1}$.

$^1 \text{ m}^{-1}$, lo que se traduce como un aumento de la aromaticidad de la MOD. El coeficiente a_{350}/COD inicial fue $1.56 \text{ L mg}^{-1} \text{ m}^{-1}$ y el final de $1.83 \text{ L mg}^{-1} \text{ m}^{-1}$, señalando un incremento leve de la concentración de lignina a lo largo de la incubación. Asimismo, el color del agua estimado a través del coeficiente a_{440}/COD , aumentó durante la incubación ($0.32 \text{ L mg}^{-1} \text{ m}^{-1}$ al inicio y $0.38 \text{ L mg}^{-1} \text{ m}^{-1}$ al final). En la mayoría de los casos, los coeficientes de absorción de las muestras de suelo fueron estables a lo largo de la incubación, con una llamativa disminución de la aromaticidad de la MOD el día 4 (**Fig. III.8**), coincidente con el incremento concomitante del COD y la disminución de la biomasa bacteriana (**Fig. III.4a** y **III.6**).

En el tratamiento de lixiviado de hojas, los coeficientes de absorción normalizados aumentaron de manera sostenida durante el mes de incubación, señalando el incremento paulatino en la aromaticidad de la MOD (**Fig. III.8**). El coeficiente a_{254}/COD (SUVA) fluctuó entre $3.08 \text{ L mg}^{-1} \text{ m}^{-1}$ al inicio y $5.16 \text{ L mg}^{-1} \text{ m}^{-1}$ al final del experimento. El contenido de lignina de la MOD (a_{350}/COD) aumentó entre un valor inicial de $0.72 \text{ L mg}^{-1} \text{ m}^{-1}$ hasta $1.75 \text{ L mg}^{-1} \text{ m}^{-1}$ final. El color del agua (a_{440}/COD), se incrementó fuertemente entre $0.09 \text{ L mg}^{-1} \text{ m}^{-1}$ y $0.53 \text{ L mg}^{-1} \text{ m}^{-1}$. Los coeficientes de absorción normalizados fueron mayores en los lixiviados de suelo que en los de hojas, salvo el color (a_{440}/COD) luego del día 24 (**Fig. III.8**).

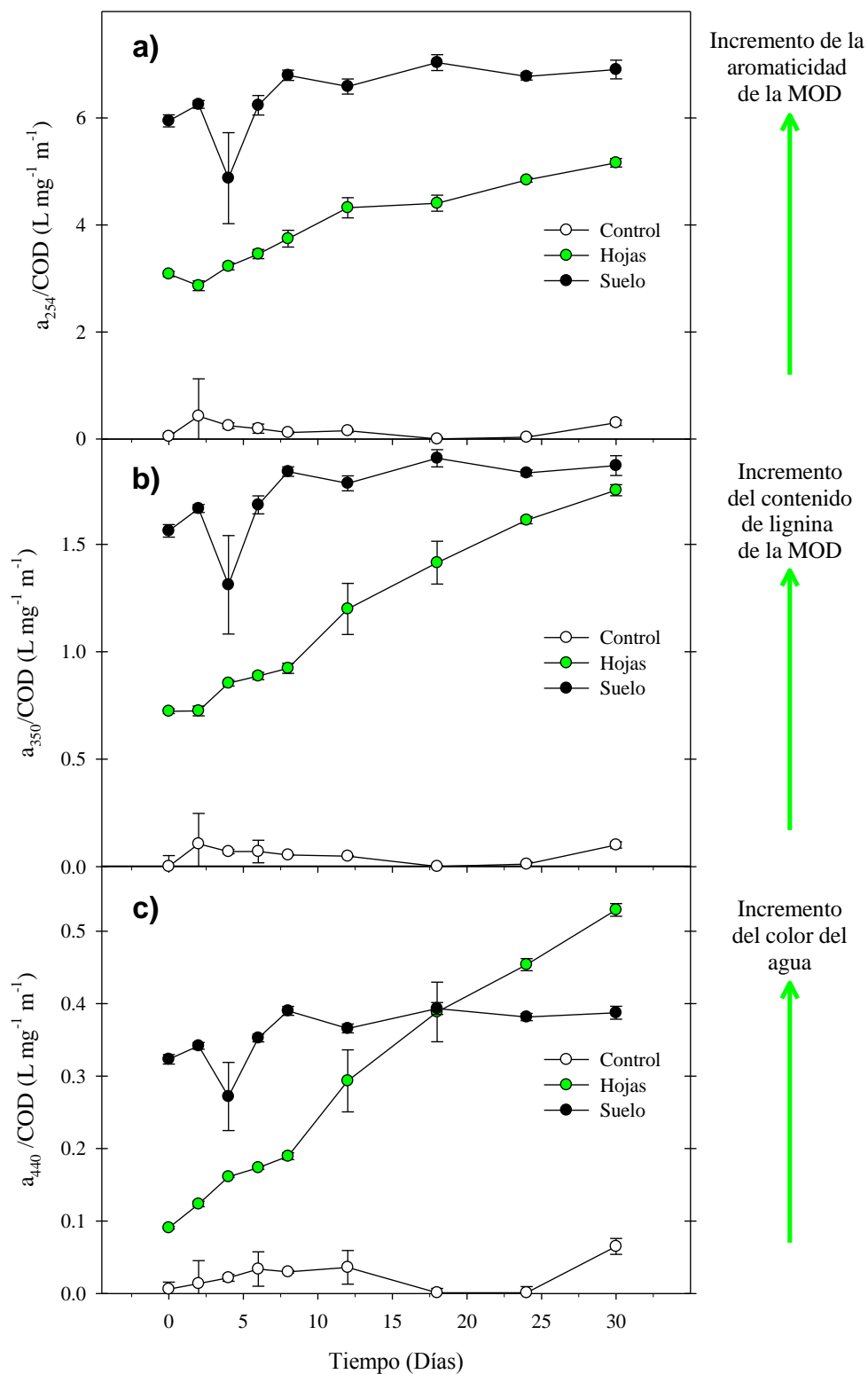


Figura III.8. Cambios en los índices espectrofotométricos normalizados por la concentración de COD en función del tiempo en los experimentos de biodegradación de lixiviados de suelo y hojas. a) a_{254}/COD (SUVA): Aromaticidad de la MOD; b) a_{350}/COD : Contenido de lignina de la

MOD c) a_{440}/COD : Color del agua. (Promedio \pm desvío estándar, $n = 3$). El control consiste en la incubación de agua ASTM1 (MilliQ) utilizada como blanco analítico.

En el caso del tamaño molecular de la MOD, estimado a partir del índice S_R , se observó que los lixiviados de suelo no presentaron cambios sustanciales, salvo al inicio del experimento con un leve aumento del peso molecular. Durante el resto del mes, la MOD del suelo presentó valores de S_R cercanos de ~ 0.77 . En cambio los lixiviados de hojas presentaron un aumento sostenido del S_R , con un valor inicial de ~ 0.68 y un valor final de ~ 1.1 (**Fig. III.9; Tabla III.1**), lo que se traduce como una disminución del tamaño molecular de la MOD en este tratamiento. Al inicio del experimento, el tamaño molecular de la MOD proveniente de los lixiviados de hojas era mayor que el de la MOD del suelo. Luego de sólo 6 días de incubación, el tamaño molecular de la MOD lixiviada de las hojas se redujo hasta valores considerablemente menores que los del suelo (**Fig. III.9; Tabla III.1**).

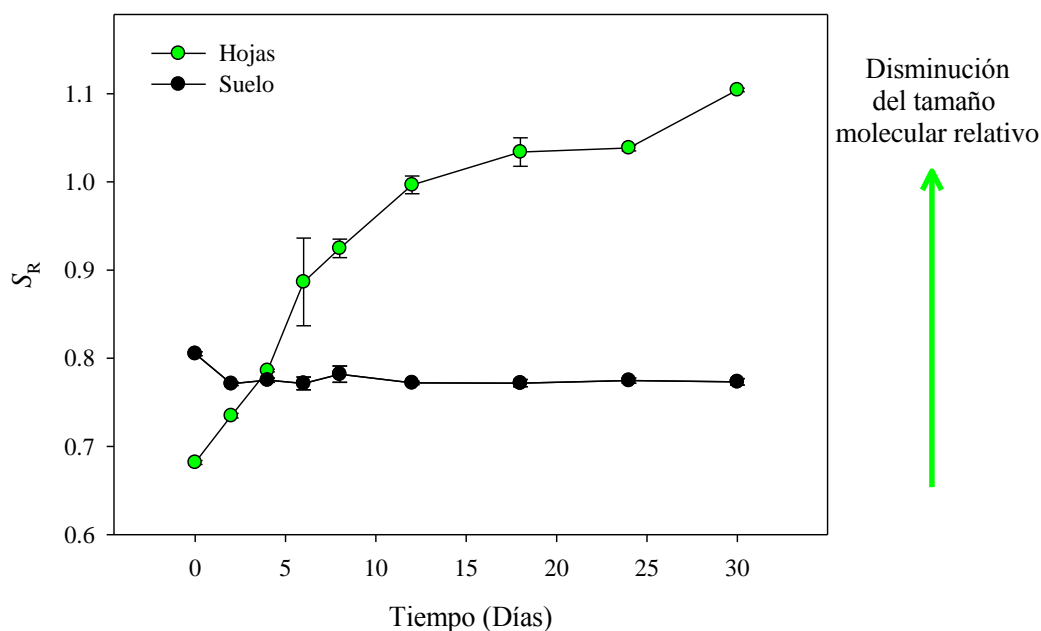


Figura III.9. Cambios en el parámetro espectrofotométrico S_R (indicador del peso molecular de la MOD) en el experimento de biodegradación de lixiviados de suelo y de hojas en función del tiempo. (Promedio \pm desvío estándar, $n = 3$).

III.4.2 Experimentos de fotodegradación

La comparación de las concentraciones de COD de los diferentes sustratos en el ensayo de fotodegradación reveló patrones contrastantes. La irradiación con PAR+UVA+UVB no afectó significativamente la concentración del COD de los lixiviados de suelo, incrementó el COD en los lixiviados de hojas y disminuyó la concentración de COD en el agua del arroyo De la Virgen (**Fig. III.10a**). La exposición a la luz provocó un descenso en el CID en todos los sustratos, sin embargo las diferencias entre las concentraciones irradiadas y no irradiadas sólo resultaron significativas en el caso de los lixiviados de suelo y en el agua del arroyo (**Fig. III.10b**). Cabe destacar que, independientemente del tiempo de incubación y el tratamiento de luz, se observaron diferencias amplias en la concentración de CID entre lixiviados: El CID fue mayor en el agua del arroyo, seguido por el lixiviado del suelo y por último el lixiviado de las hojas.

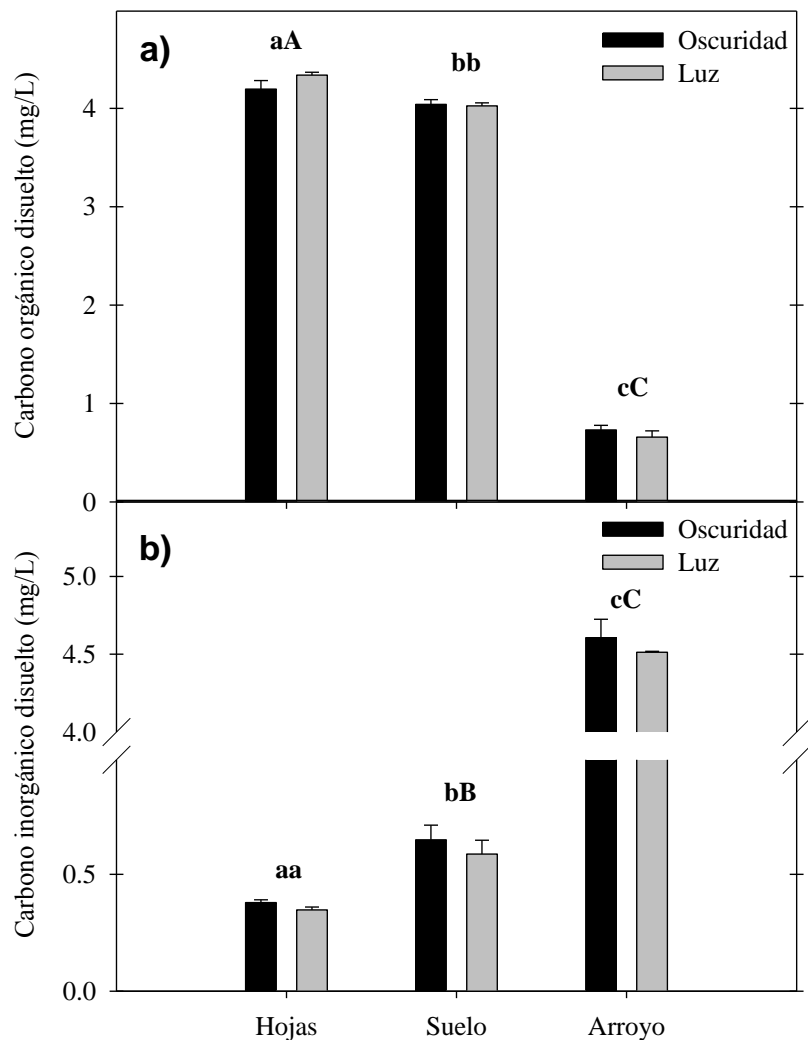


Figura III.10. Comportamiento de la concentración del carbono orgánico disuelto (COD) y del carbono inorgánico disuelto (CID) en los experimentos de fotodegradación de lixiviados de suelo y de hojas y agua del A° De la Virgen: a) COD), b) CID de los diferentes sustratos (promedio \pm desvío estándar, $n = 5$). Las letras sobre las barras indican los resultados de la comparación entre tratamientos de sustrato (lixiviado de suelo, hojas y agua del A° De La Virgen) y entre tratamientos de luz (oscuridad y luz); diferente letra indica diferencias entre los tratamientos de sustrato mientras que el tipo de letra (mayúscula y minúscula) indica diferencias entre los tratamientos de luz ($p < 0.05$).

La calidad de la MODC reflejó cambios debidos al tratamiento de radiación indicando la transformación por fotodegradación. En general se observó una pérdida de absorbancia lo cual se

trajo en la disminución de la magnitud de todos los índices espectrofotométricos en los lixiviados de suelo y de hojas (**Fig. III.11**). La MOD lixiviada de las hojas redujo su aromaticidad, contenido de lignina y color en el tratamiento irradiado, sin embargo el efecto de la radiación fue aún mayor en los lixiviados de suelo (**Fig. III.11**). Dado que las concentraciones iniciales de COD de los lixiviados se estandarizaron en ~4 mg/L, las diferencias observadas en su fotodegradación reflejarían diferencias en la labilidad de la MOD de los diferentes sustratos. El agua del arroyo presentó variabilidad en los índices espectroscópicos, sin embargo no se observaron diferencias entre los tratamientos irradiado y oscuro lo cual sería indicativo de la presencia de MOD más resistente a la fotodegradación (**Fig. III.11**).

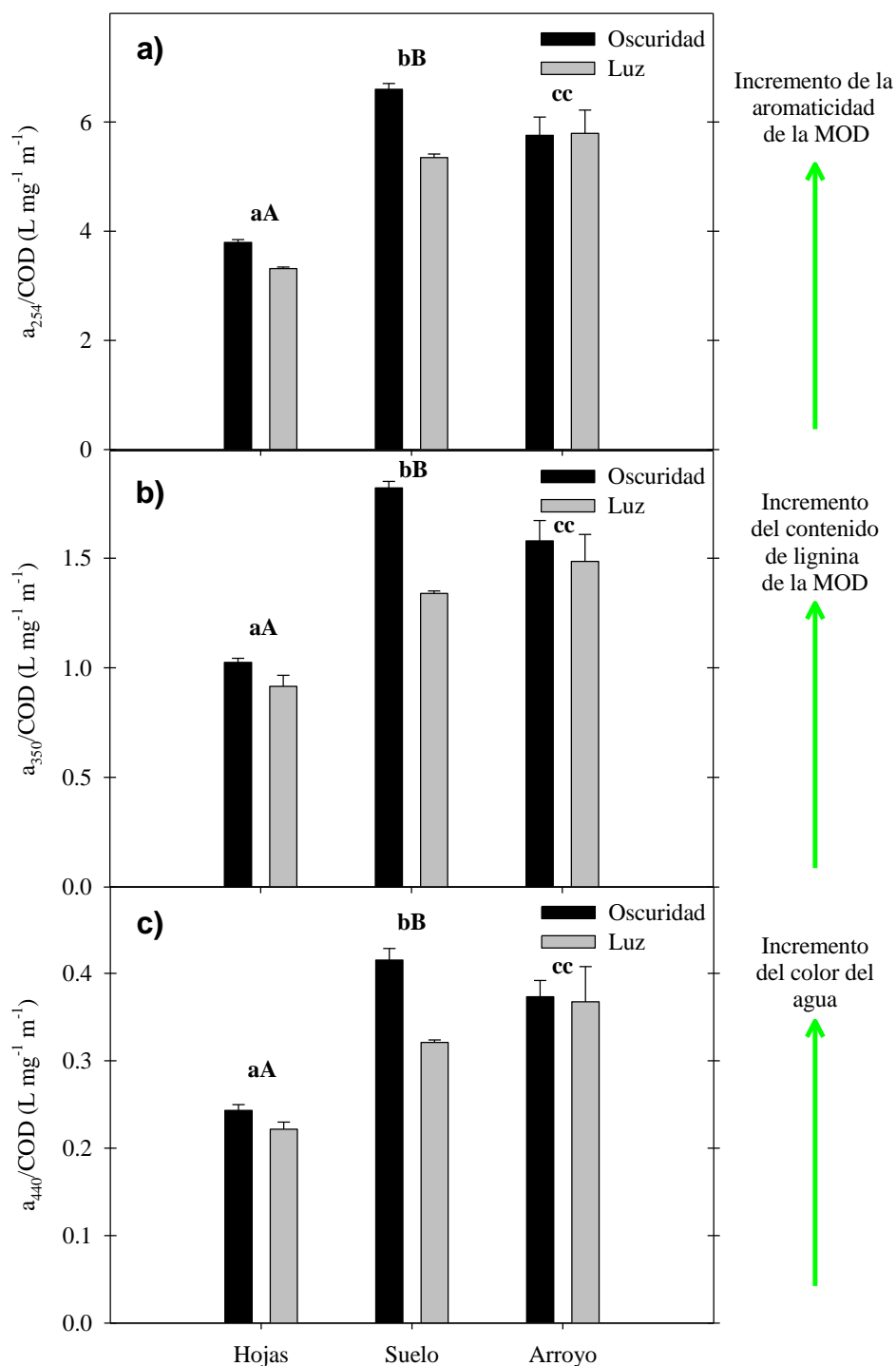


Figura III.11. Comportamiento de diferentes parámetros de la MODC en los experimentos de fotodegradación de lixiviados de suelo y de hojas y agua del A° De la Virgen: a) a_{254}/COD (aromaticidad de la MOD); b) a_{350}/COD (contenido de lignina de la MOD) y c) a_{440}/COD (color del agua) de los lixiviados luego de la fotoexposición (promedio \pm desvío estándar, $n = 5$). Las letras sobre las barras indican los resultados de la comparación entre tratamientos de sustrato

(lixiviado de suelo, hojas y agua del A° De La Virgen) y entre tratamientos de luz (oscuridad y luz); diferente letra indica diferencias entre los tratamientos de sustrato mientras que el tipo de letra (mayúscula y minúscula) indica diferencias entre los tratamientos de luz ($p < 0.05$).

Se observó como patrón general que la exposición a la radiación redujo el tamaño molecular de la MOD independientemente de su origen, aunque la respuesta fue más fuerte en el caso del lixiviado de suelo y en el agua del arroyo. El parámetro S_R , inversamente proporcional al tamaño molecular, aumentó un 21% en el lixiviado de hojas, 40% en el de suelo y 37% en el caso del agua del arroyo. La MOD del arroyo y de los suelos presentó similitud en su tamaño molecular, evidenciando un efecto semejante del tratamiento de fotodegradación (**Fig.III.12**).

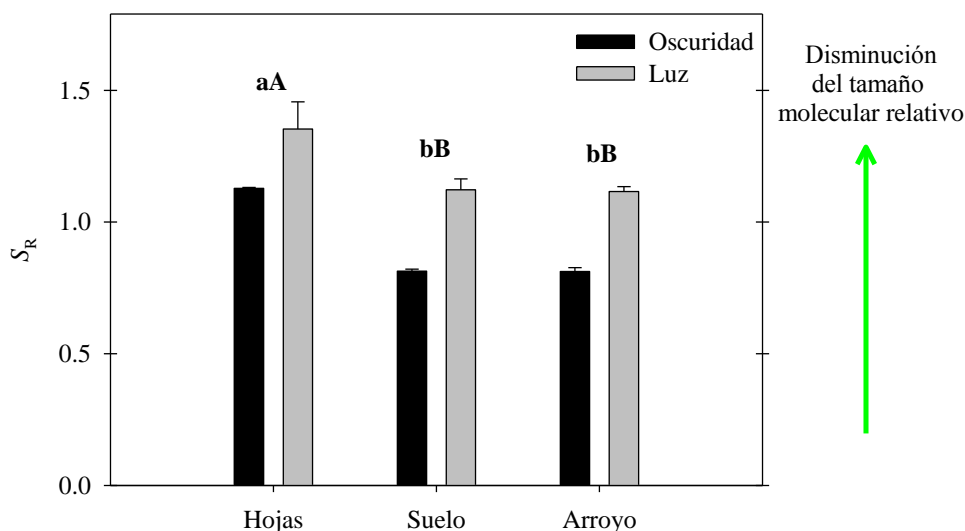


Figura III.12. Comportamiento del parámetro S_R (indicador espectrofotométrico de peso molecular de la MOD) en los experimentos de fotodegradación de lixiviados de suelo y de hojas y agua del A° De la Virgen (promedio \pm desvío estándar, $n = 5$). Las letras sobre las barras indican los resultados de la comparación entre tratamientos de sustrato (lixiviado de suelo, hojas y agua del A° De La Virgen) y entre tratamientos de luz (oscuridad y luz); diferente letra indica diferencias entre los tratamientos de sustrato mientras que el tipo de letra (mayúscula y minúscula) indica diferencias entre los tratamientos de luz ($p < 0.05$).

Mediante los espectros sincrónicos se pudo observar cambios en la composición de las sustancias que integran la MOD, dado que la exposición a la radiación generó pérdida en la intensidad de fluorescencia en todas las fuentes de MOD (**Fig. III.13**).

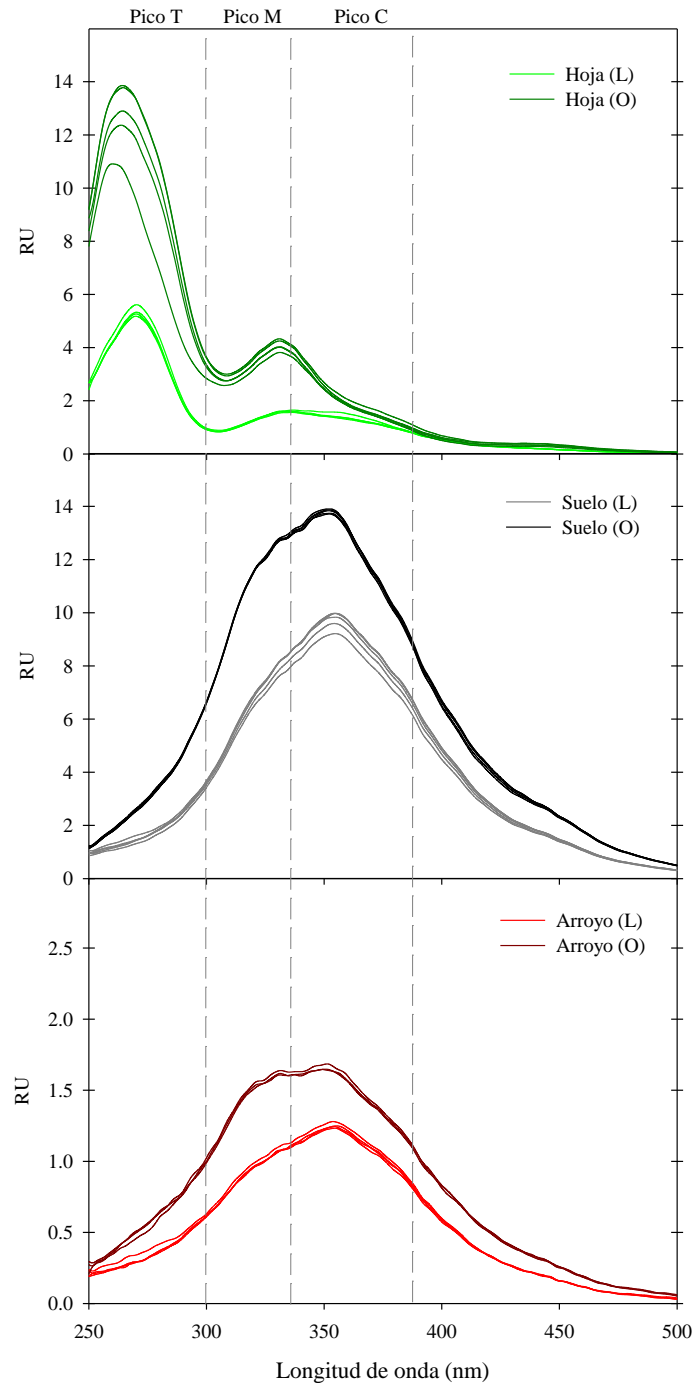


Figura III.13. Intensidad de fluorescencia de los espectros sincrónicos de 80 ($\Delta\lambda = 80$ nm) de los lixiviados de suelo y hojas, y del agua del A° De la Virgen en el experimento de fotodegradación.

Las líneas punteadas delimitan las zonas de fluorescencia de los diferentes picos según Coble (1996).

Los lixiviados de suelo presentaron valores relativamente estables de conductividad ($\sim 18 \mu\text{S}$) y pH (~ 6.2) luego de la exposición a la radiación. En los lixiviados de hojas, el pH se mantuvo relativamente constante (~ 5.6) mientras que la conductividad se redujo en un 52% a lo largo del experimento de fotodegradación. En el tratamiento con agua del arroyo De la Virgen, tanto la conductividad ($\sim 47 \mu\text{S}$) como el pH (~ 7.3) permanecieron estables luego de la exposición a la radiación (**Fig. III.14**).

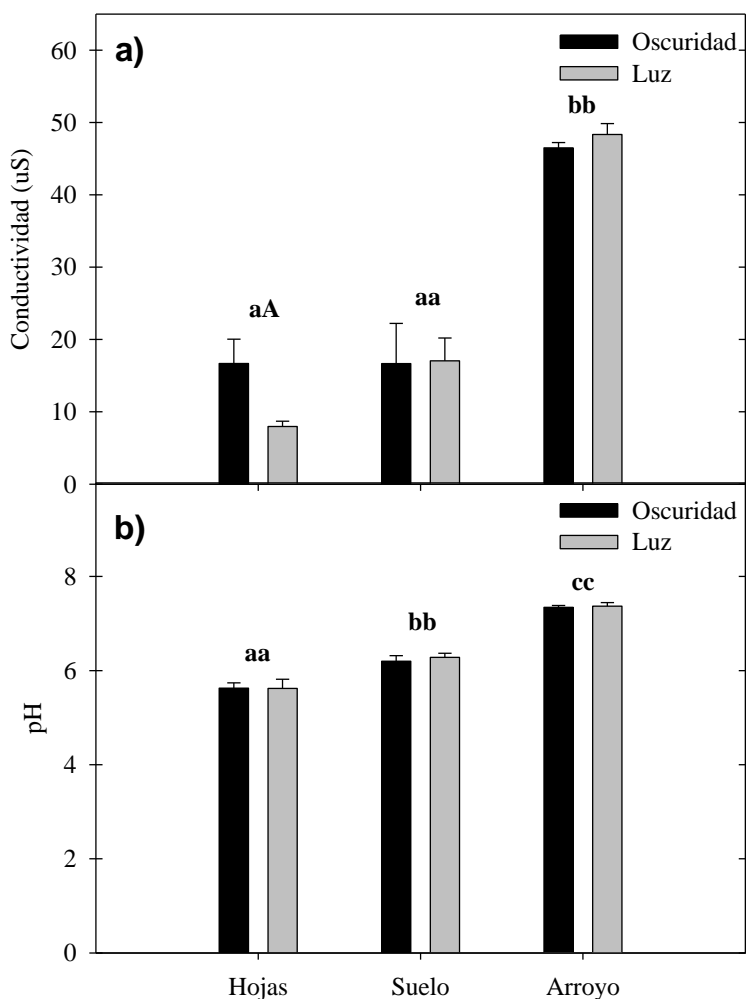


Figura III.14. Comportamiento de la conductividad y el pH en los experimentos de fotodegradación de lixiviados de suelo y de hojas y agua del A° De la Virgen: a) Conductividad y b) pH (promedio \pm desvío estándar, $n = 5$). Las letras sobre las barras indican los resultados de la

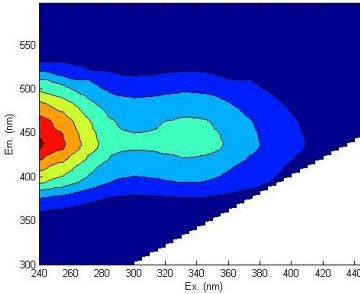
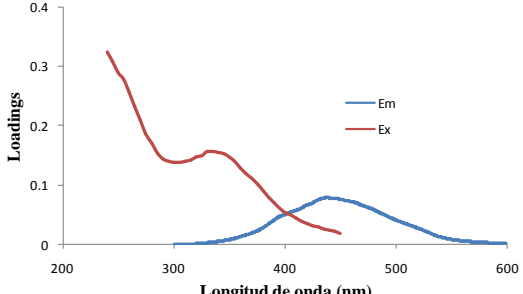
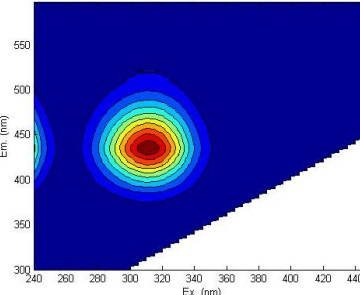
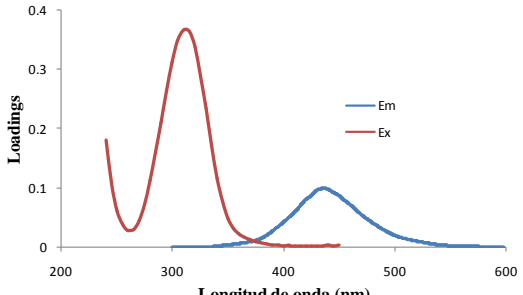
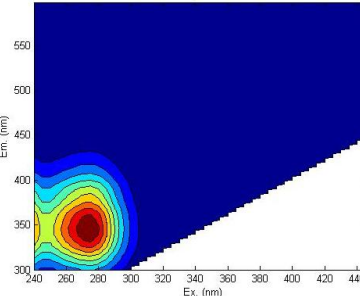
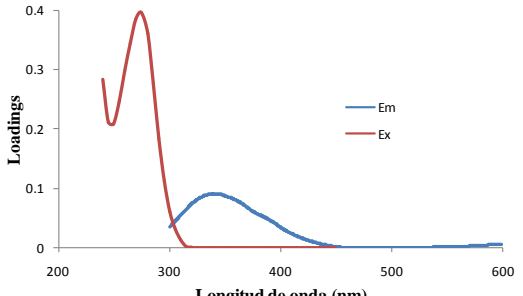
comparación entre tratamientos de sustrato (lixiviado de suelo, hojas y agua del A° De La Virgen) y entre tratamientos de luz (oscuridad y luz); diferente letra indica diferencias entre los tratamientos de sustrato mientras que el tipo de letra (mayúscula y minúscula) indica diferencias entre los tratamientos de luz ($p < 0.05$).

III.4.3 PARAFAC

El análisis de factores paralelos (PARAFAC) realizado al conjunto de las EEMs obtenidas en los experimentos de biodegradación (lixiviados de suelos y hojas) y de fotodegradación (lixiviados de suelos y hojas, y agua del A° De la Virgen), identificó tres componentes fluorescentes (C1, C2 y C3) que contribuyen a la MODF caracterizados e individualizados por la combinación de sus máximos de excitación-emisión particulares (**Tabla III.2**). Estos componentes se asemejan a componentes obtenidos de los cuatro arroyos en el Capítulo I. Tanto el C1 y el C2 se asignan a sustancias tipo húmicas derivadas del ambiente terrestre, mientras que el C3 es de naturaleza proteica. El C1 está constituido por los picos A+C, reflejando la presencia de MOD húmica de origen terrestre; la denominación de los picos se basa en Coble (1996, 2007) y Yamashita et al. (2010). El C2, referido como pico M, refleja la presencia de sustancias húmicas de origen microbiano y/o biológico. Por último, el C3, homologable al pico T, refleja la presencia de sustancias de tipo proteicas; la denominación de este pico se basa en Coble (1996), Stedmon et al. (2003) y De Laurentiis et al. (2012).

Los componentes obtenidos fueron comparados con la base de datos OpenFluor (Murphy et al., 2014), observándose una similitud mayor al 95% en el caso del C1 (homologables a lo hallado por Stedmon et al., 2011b; Cawley et al., 2012; Osburn et al., 2012; Kowalczyk et al., 2013; Lapierre y Del Giorgio, 2014) y del C3 (homologables a lo hallado por Stedmon et al., 2011b; Shutova et al., 2014). Si bien el C2 no coincidió exactamente con los componentes de la base de datos OpenFluor, las coordenadas de los máximos corresponden inequívocamente al pico M, como se describe en Cuss y Guéguen (2012).

Tabla III.2. Ubicación de los máximos de fluorescencia (máximos secundarios entre paréntesis), representación en la matriz de excitación-emisión y espectros de las cargas (loadings) de los tres componentes identificados mediante el análisis PARAFAC (Ex: Excitación; Em: Emisión), realizados sobre las matrices de los experimentos de biodegradación y fotodegradación.

Componente	Máx. Ex (nm)	Máx. Em (nm)	EMM	Espectros de las cargas
1	335 (240)	438		
2	310	436.5		
3	275	339.5		

Los espectros sincrónicos permiten detectar cambios en las intensidades de los diferentes fluoróforos y facilitan el análisis comparativo de diferentes muestras. Sin embargo, no reflejan la proporción real de todos los componentes debido a que corresponden a un corte diagonal de las matrices de fluorescencia y la intensidad detectada de cada fluoróforo dependerá de la distancia a la cual lo atraviesa el espectro sincrónico. En este sentido, el espectro sincrónico de 80 nm atraviesa centralmente al pico T, mientras pasa lateralmente por los picos C y M (**Fig. M.10** en materiales y métodos generales). El análisis PARAFAC proporciona de manera más ajustada las intensidades de los diferentes componentes. Por esta razón los valores de F_{\max} de los componentes obtenidos a través del PARAFAC permitieron evaluar con exactitud la proporción de cada componente en las diferentes muestras. En el caso de los experimentos de biodegradación, se observó en los lixiviados de suelo una clara dominancia del C1 (picos A+C) y contribuciones menores del C2 (pico M) y del C3 (pico T). El tiempo de incubación no resultó en diferencias marcadas en la contribución del C1 y C2, sin embargo el C3 (pico T) disminuyó luego del cuarto día de incubación (**Fig. III.15; Tabla III. 3**), patrón previamente evidenciado a través de los espectros sincrónicos (**Fig. III.6**). Las EEMs de los lixiviados de hojas por su parte presentaron una dominancia de los componentes C3 (pico T) y C2 (pico M), disminuyendo ambos sus intensidades (en mayor grado el C2) a lo largo de la incubación (**Fig. III.15; Tabla III.3**). La fluorescencia del C1 (A+C) en los lixiviados de hojas tuvo muy baja representatividad, aunque a partir del día 12 se intensificó (**Fig. III.15; Tabla III.3**), coincidiendo con lo observado mediante los espectros sincrónicos (**Fig. III.6**). La única discrepancia entre resultados del análisis de los espectros sincrónicos y del PARAFAC se observó en el caso de los lixiviados de hojas. El PARAFAC señaló una co-dominancia del C3 y C2, mientras que los sincrónicos mostraron la dominancia del C3. Esto probablemente se deba a que el C3 es cruzado centralmente por el espectro sincrónico de 80 nm, mientras que el C2 es atravesado lateralmente.

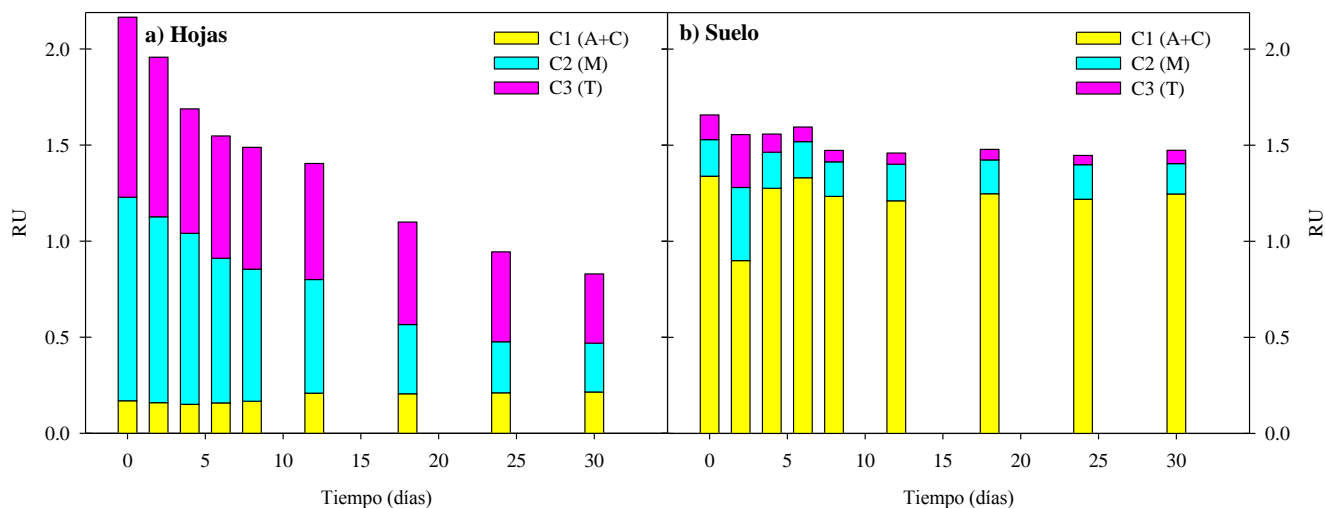
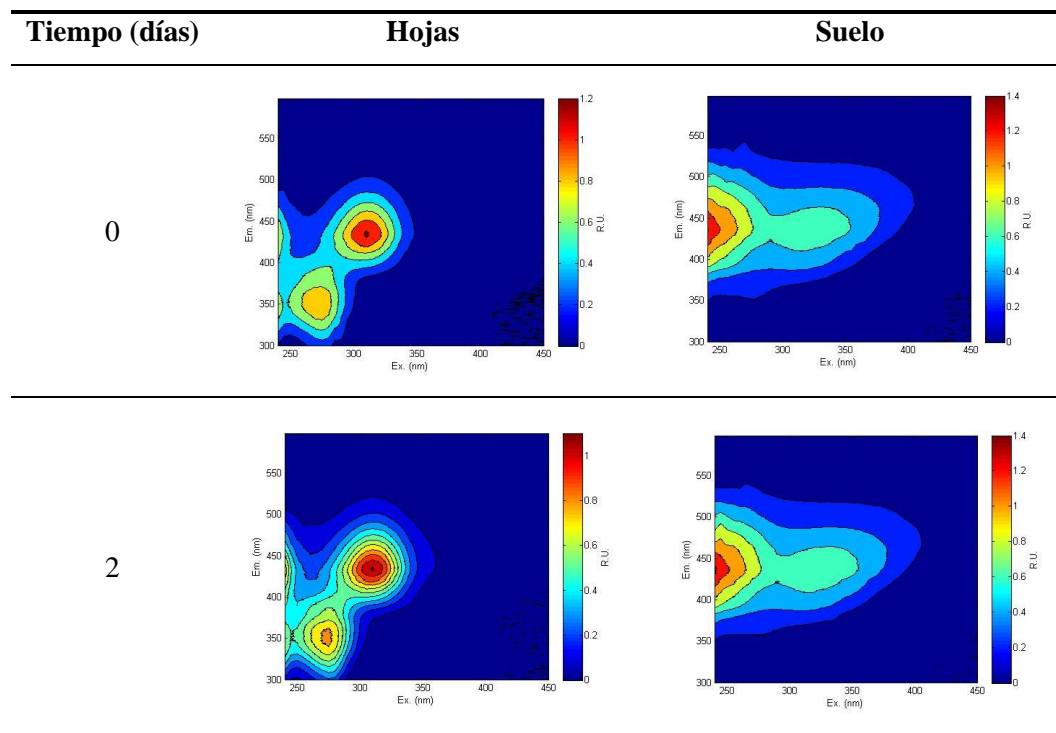
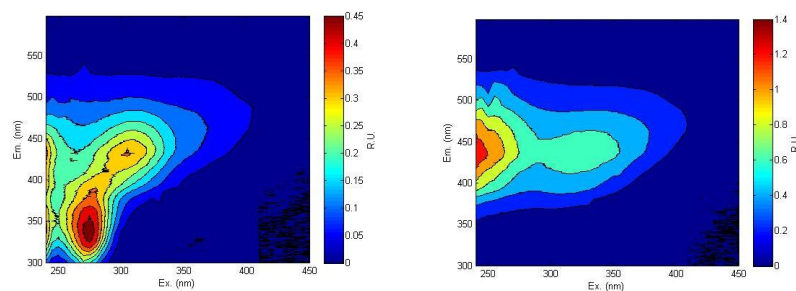


Figura III.15. Cambios en la fluorescencia máxima (F_{\max}) de los componentes obtenidos a través del análisis de factores paralelos (PARAFAC) en las incubaciones de lixiviados de suelo y hojas (C: Componente).

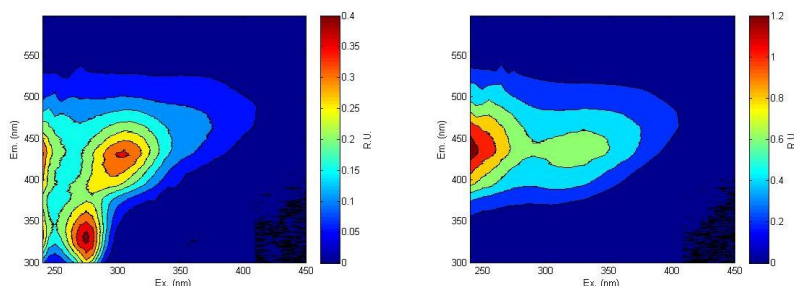
Tabla III.3. Matrices de excitación y de emisión (EEMs) de los lixiviados de suelo y hojas en el experimento de biodegradación, a lo largo de 30 días de incubación. Observar la disminución de la intensidad de fluorescencia a lo largo del tiempo evidenciada por la disminución de los máximos en RU del eje y (especialmente en los lixiviados de hojas).



24

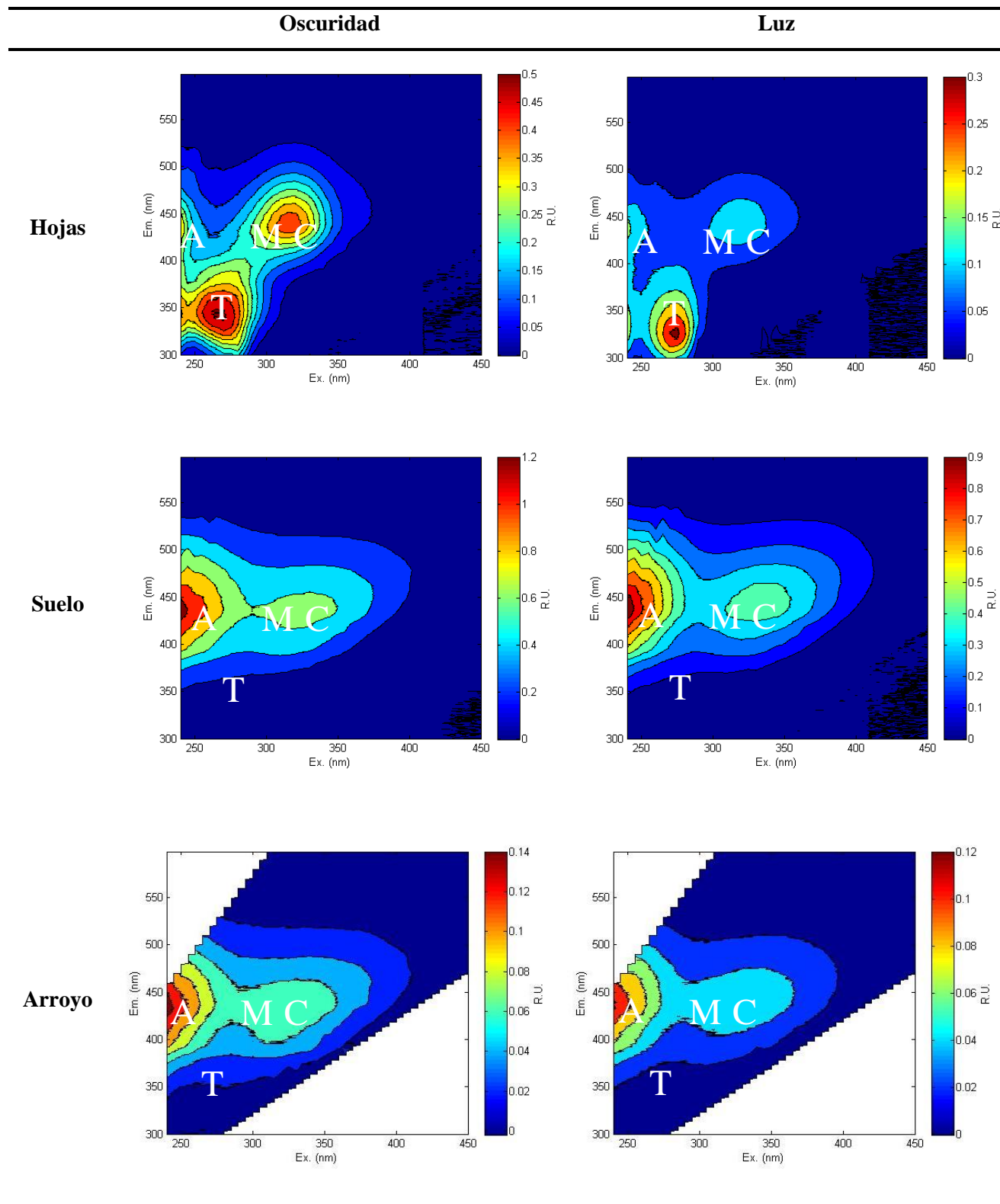


30



El análisis de las matrices de fluorescencia obtenidas del ensayo de fotodegradación reveló cambios en la composición de las sustancias que integran la MOD de los diferentes sustratos (**Fig. III.16; Tabla III.4**). La exposición de los diferentes sustratos a la radiación generó la pérdida de fluorescencia independientemente de su origen. En los lixiviados de hojas, se produjo un descenso pronunciado del ~70% para C2 (pico M) y del ~55% para C3 (pico T), con una disminución más leve (~30%) en el C1 ante la exposición a la radiación (**Fig. III.16; Tabla III.4**). En la MOD proveniente del suelo, la exposición a la radiación produjo un fuerte descenso de las intensidades de los componentes, ~97% en el C3 (pico T), ~90% en el caso del C2 (pico M), y ~25% en el C1 (pico A+C) (**Fig. III.16**). Por último, los componentes de la MOD del A° De la Virgen también disminuyeron su intensidad en el tratamiento de luz, ~60% en el caso del C2 (pico M), ~40% en el C3, mientras que el C1 (picos A+C) resultó más resistente, como lo reflejó su menor pérdida de fluorescencia (21%) (**Fig. III.13**).

Tabla III.4. Matrices de excitación y de emisión (EEMs) representativas de los lixiviados de suelo, de hojas y agua del A° De la Virgen en los tratamientos de PAR+UVA+UVB y oscuridad del experimento de fotodegradación de la MOD. Nótese las diferencias de escala de la intensidad de la fluorescencia.



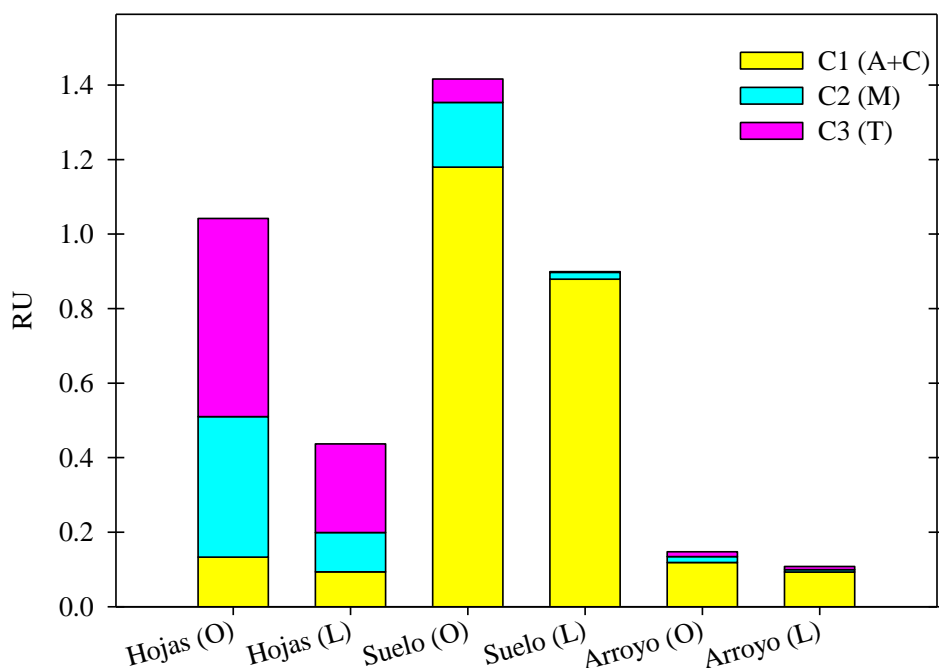


Figura III.16. Intensidad promedio de la fluorescencia máxima (F_{\max}) de los componentes C1, C2 y C3, de los lixiviados de MOD del suelo y de las hojas, y del agua del A° De la Virgen en el experimento de fotodegradación (O: oscuridad; L: PAR+UVA+UVB).

III.5 DISCUSIÓN

La materia orgánica disuelta presente en las aguas superficiales, deriva de sustancias orgánicas lixiviadas de la hojarasca y de los suelos. Al inicio de la descomposición del material vegetal, una porción importante de la pérdida de masa se produce por lixiviación de las sustancias hidrosolubles, especialmente en el caso de la biomasa foliar (Uselman et al., 2012). En este sentido, los resultados de este estudio experimental señalan claramente que el suelo y las hojas de lenga tienen diferente potencial de aporte de materia orgánica disuelta hidrosoluble, tanto en términos de concentración como de calidad. Los lixiviados de hojas de lenga aportaron 60 veces más COD (~304 mg/L) que los lixiviados del suelo (~5 mg/L) (**Fig. III.4**). Por otra parte, el aporte de CID del suelo (~0.8 mg/L) duplicó el aporte de las hojas (~0.4 mg/L) (**Fig. III.4**). Las propiedades químicas de los lixiviados también fueron diferentes, con una mayor conductividad (125 μ S) y menor pH (~5) en las muestras de hojas que en suelos (15 μ S y pH 6.5) (**Fig. III.7**). La diferencia en estos aportes de COD, podría deberse en parte a la diferente solubilidad en agua de la MOD de las hojas y del suelo. La biomasa foliar posee una gran variedad de compuestos orgánicos hidrosolubles y nutrientes (Cleveland et al., 2004) que son lixiviados rápidamente tanto en pie como en los suelos (Uselman et al., 2012; Bischoff et al., 2015). La elevada solubilidad de la MOD proveniente

de la hojarasca depositada en el suelo favorece su transferencia rápida hacia horizontes más profundos, permaneciendo en la superficie compuestos poco hidrosolubles y más recalcitrantes a la lixiviación (Hur et al., 2009). Esto explicaría las diferencias en la magnitud del aporte de COD de las hojas y los suelos observadas en este estudio. En cuanto a la calidad de la MOD proveniente de las hojas y del suelo, los análisis espectrofométricos y espectrofluorométricos revelaron diferencias importantes en cuanto a la composición de los lixiviados. La MOD proveniente de los suelos presentó mayor aromaticidad (a_{254}/COD o SUVA), mayor contenido de lignina (a_{350}/COD), más color (a_{440}/COD) e indicios de mayor grado de humificación que la proveniente de las hojas (**Fig. III.8**). La MOD de ambos lixiviados fue caracterizada como de tamaño molecular grande teniendo en cuenta los valores de S_R (< 0.9), sin embargo cabe mencionar la MOD de las hojas presentó mayor tamaño molecular que la del suelo (**Fig. III.9**) y también menor aromaticidad y contenido de lignina.

En general, la MOD hidrosoluble representa un continuo que incluye compuestos lábiles de bajo peso molecular (p.e. azúcares simples, aminoácidos y fenoles solubles) hasta carbohidratos de degradación lenta y compuestos fenólicos derivados de taninos y de la lignina (Chantigny et al., 2014; y referencias en ese trabajo). En este sentido se podría interpretar que los lixiviados de hojas presentarían una mayor concentración y diversidad de éstos compuestos orgánicos, incluyendo sustancias de diferente peso molecular, moléculas simples y aromáticas, mientras que el suelo presentaría más sustancias hidrofóbicas, aromáticas producto de una etapa madurativa más avanzada en la que los procesos de lixiviación y degradación han reducido la fracción más lábil de la MOD.

Un primer análisis de la MODF a través de los espectros sincrónicos, indicó diferencias en los compuestos orgánicos lixiviados de los suelos y de las hojas. La MOD hidrosoluble fluorescente de las hojas de lenga está compuesta por sustancias proteicas (pico T) y compuestos de origen microbiano (pico M), mientras que los lixiviados de suelo presentan sustancias húmicas (pico C) y compuestos de origen microbiano (pico M) (**Fig. III.5**). A lo largo del experimento de biodegradación se pudo detectar la transformación de la MODF debida a la acción bacteriana, especialmente en el lixiviado de hojas. En este caso, los picos T y M disminuyeron en intensidad y a partir del día 12 se incrementó el pico C (~65%). En los lixiviados de suelo, los picos C y M mantuvieron sus intensidades relativamente estables a lo largo del experimento y la región del pico T, que estuvo presente en los primeros días de la incubación, se extinguió hacia al día 6 (**Fig. III.5**). Las sustancias orgánicas que producen los picos T y M resultarían más lábiles que los compuestos que producen el pico C. En efecto, los componentes húmicos presentes en los lixiviados que fluorescen en el pico C,

fueron los que presentaron cambios menores frente la actividad microbiana. La biolabilidad diferencial de los lixiviados de hojas y de suelo se evidenció también a través del crecimiento bacteriano y su transformación en biomasa bacteriana. A partir de abundancias iniciales semejantes de bacterias en los dos sustratos, se observó que la MOD del suelo permitió un crecimiento rápido de la abundancia y de la biomasa bacteriana en los primeros dos días, decayendo luego abruptamente para mantenerse luego en el orden de 10^6 cel./mL. En cambio el crecimiento bacteriano en el lixiviado de hojas fue exponencial los primeros 8 días, alcanzando valores de 10^8 cel./mL y estabilizándose luego en el orden de 10^7 cel./mL. Los resultados obtenidos revelaron que la MOD lixiviada de las hojas resulta un sustrato mucho más rico para el crecimiento bacteriano que la MOD del suelo. Esto no sólo se debería a la mayor concentración de MOD en los lixiviados de hojas sino también a su calidad. La MOD proveniente de los suelos resultó en gran medida recalcitrante, lo cual se reflejó en un menor crecimiento bacteriano, menor consumo de COD por parte de las bacterias (~23% de consumo/mes vs 52% de consumo/mes en el lixiviado de hojas) y en los niveles comparativamente mayores de CID respecto al COD (**Fig. III.5**). La mortalidad de bacterias observada en el día 4 de incubación en los lixiviados de suelo, se reflejó en un incremento concomitante del COD liberado por la lisis celular. El crecimiento bacteriano en el lixiviado de hojas fue exponencial durante varios días, en los que se evidenció un consumo fuerte de COD, una mineralización en progreso reflejada en los valores crecientes de CID (particularmente después del día 8), así como también por el incremento del pico C a partir del día 12 (**Fig. III.5**). La biodegradación de la MOD típicamente produce la disminución del COD y el incremento concomitante del CID, a la vez que la respiración bacteriana constituye una de las fuentes de CO₂ a la atmosfera (Kaplan et al., 2008; Guillemette y Del Giorgio, 2011; Cory y Kaplan, 2012). Por otra parte, la acción de las bacterias produjo cambios en la calidad de la MOD, independientemente de su origen. Los cambios en la calidad debido a la actividad microbiana pueden resultar de la combinación de diversos procesos, como la utilización preferencial de determinados sustratos, la producción y la transformación de compuestos, entre otros (Young et al., 2005; Hur et al., 2009; Guillemette y Del Giorgio, 2011). En este trabajo, la biodegradación de la MOD lixiviada de hojas produjo una disminución fuerte y sostenida del tamaño molecular, el incremento de su aromaticidad y contenido de lignina probablemente debido al consumo selectivo de las bacterias sobre los compuestos menos aromáticos y más accesibles de ese sustrato, como ha sido observado en numerosos estudios (Cory y Kaplan, 2012; Berggren y Del Giorgio, 2015). La acción de las bacterias sobre la MOD más recalcitrante del suelo, incrementó levemente su tamaño

molecular, aromaticidad y contenido de lignina, especialmente al inicio de la incubación. Sin embargo estos procesos se estabilizaron rápidamente, reflejando la escasa reactividad y/o labilidad del sustrato remanente (**Fig. III.8 y 9**). Todo esto indica que la composición química de la MOD hidrosoluble tiene un efecto importante sobre las tasas de degradación y de mineralización de la materia orgánica, como ha sido observado en otros estudios (Kalbitz et al., 2005; Cleveland et al., 2004; Hur et al., 2009; Catalán et al., 2013; Huang et al., 2015). El grado de humificación de la MOD puede ser utilizado como estimador de su biodegradabilidad (Don y Kalbitz, 2005; Guillemette y Del Giorgio, 2011).

La fotodegradación de los lixiviados de hojas, de suelo y de agua del A° De la Virgen produjo cambios moderados en las concentraciones de COD y de CID. La radiación aplicada no afectó significativamente la concentración del COD de los lixiviados de suelo, incrementó levemente el COD en los lixiviados de hojas y disminuyó la concentración de COD en el agua del arroyo (**Fig. III.10a**). Cabe destacar las diferencias en la concentración de CID entre sustratos, tanto al inicio como al final del experimento de fotodegradación. El CID fue mayor en el agua del arroyo, seguido por el lixiviado del suelo y por último el lixiviado de las hojas, señalando claramente el diferente grado de mineralización y de reactividad de los sustratos (**Fig. III.10b**). La radiación provocó un pequeño descenso en el CID, particularmente en el caso de los lixiviados de suelo y en el agua del arroyo (**Fig. III.10b**) indicando estabilidad y resistencia de estos sustratos a la fotomineralización. El incremento del COD en el tratamiento de hojas irradiado podría relacionarse con una lisis de bacterias por efecto de la radiación. Cabe aclarar que si bien los experimentos se realizaron sobre lixiviados esterilizados por filtración, éstos no fueron suplementados con un bacteriostático ya que interferiría con la caracterización de la MOD. Si bien la fotodegradación no produjo cambios importantes en la concentración de la MOD (**Fig. III.10**), se registraron importantes cambios en la capacidad de absorber luz solar debido al rompimiento de los cromóforos (Kieber et al., 1990; Reche et al., 2000). Estas pérdidas de absorbancias indican la disminución en la concentración de sustancias aromáticas (a_{254}), derivados de lignina (a_{350}) y en la coloración del agua (a_{440}) (**Fig. III.11**).

En cuanto al efecto de la radiación sobre la calidad de la MOD, fue más pronunciado sobre los lixiviados de suelo y hojas que sobre el agua del arroyo. Se evidenció una disminución de la aromaticidad, del contenido de lignina y del color, con cambios más grandes en la MOD del suelo que en la de las hojas (**Fig. III.11**). En el caso del agua del arroyo estos tres parámetros fueron estables. La exposición a la radiación produjo la disminución del tamaño molecular de la MOD de los tres sustratos, observándose el mayor

decrecimiento en el lixiviado de suelo, seguido por el agua del arroyo y por último por el lixiviado de hojas (**Fig. III.12**).

Por otra parte, el análisis de los espectros sincrónicos de la MODF en el ensayo de fotodegradación reveló una reducción general de la intensidad de la fluorescencia en todos los sustratos. La exposición a la radiación redujo la intensidad de los picos T y M en los lixiviados de hojas y de los picos C y M en la MOD del suelo y el agua del arroyo (**Fig. III.13**).

El análisis PARAFAC aplicado a las EEMs obtenidas de todos los experimentos reveló la presencia de tres componentes, C1, C2 y C3. Como ya se mencionó en el Capítulo I, los componentes 1 y 2, son de tipo húmico, de origen terrestre, provenientes de la plantas vasculares (C1: picos A y C) y de la actividad microbiana y/o biológica (C2: pico M), mientras que el componente 3 corresponde a compuestos de tipo proteico (C3: pico T). En los lixiviados de hojas predominaron los componentes C2 y C3 mientras que el C1 fue comparativamente menor. En el suelo predominó el C1, seguido por una menor proporción del C2 y sólo una escasa contribución del C3. En la MOD del A° De la Virgen predominó el C1 siendo aún más baja que en el suelo la contribución del C2 y C3. El componente C1 fue más resistente a la biodegradación que a la fotodegradación (**Fig. III.15 y 16**). En este sentido, las moléculas aromáticas son estructuras muy reactivas a la exposición a la radiación (Ishii y Boyer 2012; Helms et al., 2014). Por ejemplo la lignina, un biopolímero aromático, es fotodegradado hasta aproximadamente ~95% en el término de dos meses bajo condiciones de radiación naturales (Spencer et al., 2009).

Los picos C2 y C3 por su parte redujeron su intensidad tanto por biodegradación como por fotodegradación (**Fig. III.15 y 16**). Los picos húmicos A y C que integran el C1 han sido descritos como sustancias aromáticas complejas y recalcitrantes a la degradación bacteriana (Aiken et al., 1992) mientras que el pico T, corresponde a sustancias de tipo proteicas de bajo peso molecular y de elevada biolabilidad (Norden y Berg, 1990; Kalbitz et al., 2003; Don y Kalbitz, 2005; Cory y Kaplan, 2012). Las sustancias incluidas en el C3 fueron consumidas rápidamente por los microorganismos durante los primeros días de incubación (**Tabla III.3; Fig. III.12 y 13**). La formación del C1 (esbozo pico C) que se incrementó a partir del día 12 en los lixiviados de hojas, se relacionaría con la transformación bacteriana de la MOD desde sustancias simples a sustancias más complejas de tipo húmico (**Fig. III.15**). Los compuestos orgánicos generados por las bacterias son en gran parte refractarios, lo que disminuye la biodisponibilidad general de la MOD luego de procesos de biodegradación, proceso que

resulta una vía de secuestro de carbono conocida como bomba de carbono microbiana o “*microbial carbon pump*” (Ogawa et al., 2001; Jiao et al., 2010; Romera-Castillo, 2011).

En este sentido, el análisis de la degradación de la MOD y su efectos sobre diferentes sustratos permite comprender los flujos de carbono y el rol de las diferentes líneas de transformación que pueden funcionar simultáneamente como fuente de carbono para las redes tróficas y como sumidero de carbono en los sedimentos y la atmósfera (Raymond y Bauer, 2001; Cole et al., 2007; Guillemette y Del Giorgio, 2012).

CONCLUSIONES FINALES



- Los arroyos que drenan la cuenca del complejo lacustre Moreno se encuentran entre los ambientes dulceacuícolas más oligotróficos del mundo, con niveles basales extremadamente bajos de COD, STS y nutrientes (COD 0.5-1 mg/L; STS 1 mg/L; PT ~5 µg/L; NT ~98 µg/L) y presentan incrementos fuertes durante épocas de crecidas (COD 1-4 mg/L; STS 20-60 mg/L; PT 20-140 µg/L; NT 200-530 µg/L).
- Los ingresos de MOD y nutrientes en los arroyos están sincronizados con los eventos de precipitación que determinan las crecidas (ver **Fig. C.1**).
- La hidrología y la dinámica del ingreso de materiales desde la cuenca a los arroyos se encuentra regida por la fuerte estacionalidad de las precipitaciones de la región (ver **Fig. C.1**).
- El deshielo de primavera produce valores intermedios de caudal y de materiales en los arroyos en comparación con las estaciones de verano y otoño-invierno (ver **Fig. C.1**).
- En los arroyos analizados la MOD cromofórica es predominante, representando un porcentaje mayor al 93% del COD. Las estimaciones de MODnC y MODnF confirmaron que estas fracciones son muy bajas. Por lo tanto, el estudio de las propiedades ópticas permitió caracterizar la fracción mayoritaria de la MOD en estos ambientes.
- Los análisis de espectroscopia óptica y de fluorescencia revelaron que la MOD de los arroyos es de alto contenido aromático, gran tamaño molecular y casi exclusivamente de origen terrestre, con un importante grado de humificación.
- La MOD de los arroyos está constituida por tres componentes de origen terrestre con cierto grado de procesamiento microbiano. El componente 1 (C1: picos A+M) y el componente 2 (C: picos A+C) son de tipo húmico incluyendo compuestos aromáticos de tamaño molecular grande, mientras que el componente 3 (C3: pico T) de menor tamaño molecular y aromaticidad incluye compuestos de tipo proteico/fenólico.
- El dominio de los componentes húmicos a lo largo de todo el año en la MOD de los arroyos indica una importante transferencia de carbono desde la cuenca. El componente proteico/fenólico también tiene un origen terrestre y representa una fracción de MOD

lábil proveniente de la vegetación y suelos circundantes cuya influencia cobra importancia en la primavera debido a su ingreso en las aguas de deshielo. Todo esto señala la heterotrofía del sistema en términos de carbono.

- La MOD de los arroyos evidenció el impacto de la caída de cenizas sobre la cuenca debida a la erupción del complejo volcánico Puyehue-Cordón Caulle. Se observó una contribución excepcional del componente del tipo proteico (C3) en la MOD durante la primavera posterior a la erupción, probablemente originada por cambios en la actividad microbiana en los suelos de la cuenca.
- En el gradiente longitudinal y altitudinal del arroyo Casa de Piedra se reflejan los diferentes aportes de la cuenca, determinados fundamentalmente por el desarrollo y tipos de vegetación y suelos. La cabecera se encuentra subsidiada por la laguna Jakob, y presenta de MOD de bajo peso molecular y baja aromaticidad producto de procesos de maduración típicos de ambientes lenticos. Aguas abajo, la vegetación caducifolia y los suelos aportan MOD de mayor tamaño molecular y aromaticidad (ver **Fig. C.1**).
- La MOD del arroyo Casa de Piedra estuvo dominada por compuestos húmicos terrestres a largo de todo el gradiente longitudinal. También se determinaron compuestos de tipo proteico de influencia más puntual y variable en términos espacial y temporal. La presencia de estas sustancias se relacionaría con la caída de hojas en otoño, con la productividad primaria en los distintos tramos del arroyo y probablemente con la influencia de la ceniza volcánica en la actividad de los suelos.
- Los arroyos Casa de Piedra, De la Virgen y Goye aportaron nutrientes y MOD de tamaño molecular grande y alto contenido aromático a los lagos Moreno Este y Oeste, contrastantes con la MOD lacustre menos aromática y de menor tamaño molecular.
- La influencia de los arroyos sobre los lagos se manifestó en el ingreso de sólidos totales en suspensión y MOD más aromática, de características transicionales observables sobre las plumas dentro de los lagos. Estos aportes y sus efectos se incrementarían fuertemente en épocas de precipitaciones, cuando el caudal y el escurrimiento de materiales desde la cuenca resulta máximo (ver **Fig. C.1**).

- Los lixiviados de biomasa foliar de lenga (*N. pumilio*) aportan grandes cantidades de MOD compuesta por sustancias del tipo proteicas (pico T) y derivados de la actividad bacteriana (pico M). En cambio, los lixiviados de suelo aportan menor cantidad de MOD compuesta principalmente por sustancias húmicas (picos A y C).
- La MOD del suelo y de las hojas de lenga presenta diferente resistencia a la degradación tanto por la microbiota bacteriana como por la exposición a la radiación solar. La MOD del suelo resultó altamente recalcitrante a la biodegradación, sin embargo fue reactiva a la exposición a la radiación. Por su parte, la MOD de las hojas fue un sustrato vulnerable a ambos factores.
- Tanto la biodegradación como la fotodegradación conducen a la humificación y mineralización de la MOD independientemente de su origen, lo cual se refleja directamente en concentraciones crecientes de CID y en una disminución de los compuestos lábiles.
- La MOD proveniente de la vegetación y los suelos de la cuenca, aunque de diferente calidad, sustenta el crecimiento bacteriano. La MOD enriquecida en componentes proteicos/fenólicos (pico T) y compuestos derivados de la actividad microbiana (pico M) es transformada en biomasa microbiana de manera más eficiente.
- La MOD del A° De la Virgen presentó un elevado grado de humificación probablemente debido a su exposición previa a procesos degradativos que agotaron los sustratos más vulnerables. La prevalencia de los compuestos húmicos más recalcitrantes determinaría su resistencia a la fotodegradación.
- La proporción de carbono orgánico:inorgánico (COD:CID) en los sustratos (arroyo < lixiviado suelo < lixiviado hojas) refleja el gradiente de degradación y grado de mineralización de estas fuentes.
- Los componentes de la MOD proveniente de las hojas, suelos y agua natural del A° De la Virgen determinados mediante el análisis de PARAFAC mostraron superposición con los componentes detectados en la MOD de los cuatro arroyos. Esta redundancia refleja que

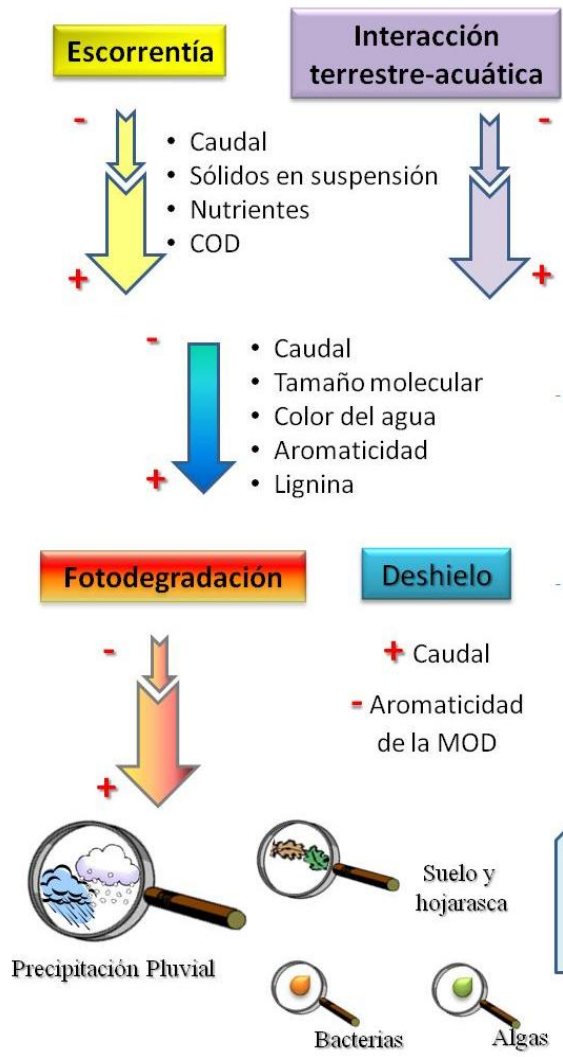
las contribuciones de los suelos y de la hojarasca predominan en la MOD autóctona que ingresa a los arroyos.

- Los arroyos tienen un rol conductor en la transferencia de nutrientes y carbono disuelto hacia los lagos pedemontanos, secuestrando relativamente poco carbono en el sistema durante la transferencia.
- El rol central de las precipitaciones en el transporte de materiales terrestres a la red fluvial permitiría inferir la vulnerabilidad de los sistemas acuáticos de la cuenca a los cambios en el régimen de precipitación como consecuencia del cambio climático. Las fluctuaciones en los patrones de precipitación y temperatura junto con los niveles elevados de radiación solar de la región incidirían en el procesamiento y en la dinámica del transporte de la MOD desde la cuenca. Esto determinaría el grado de mineralización del ingreso, los procesos degradativos en el medio acuático y su rendimiento en términos de aporte a las tramas tróficas acuáticas.
- Este estudio proporciona las primeras evidencias acerca del funcionamiento de sistemas lóticos, en términos de la dinámica de la MOD y de los nutrientes, revelando la interacción y dependencia de éstos sistemas y la cuenca en las cabeceras de las redes fluviales andino-patagónicas.

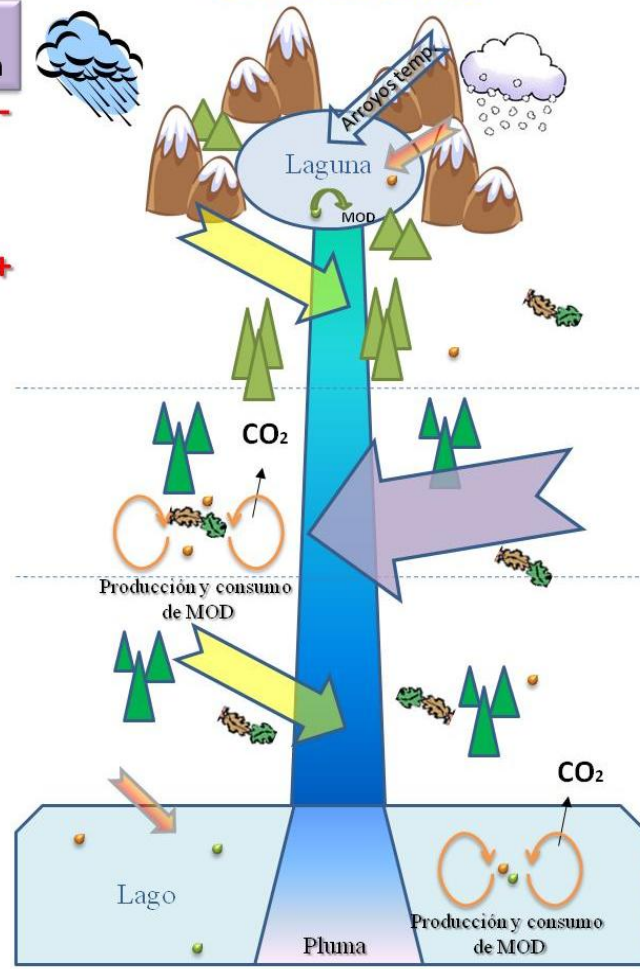
Figura C.1. Esquema de la dinámica del transporte de materiales en arroyos de montaña nordpatagónicos.

Las precipitaciones estacionales (otoño-invierno) incrementan la escorrentía arrastrando partículas, MOD y nutrientes de la vegetación y los suelos de la cuenca hacia la red fluvial. En estos períodos, la interacción terrestre-acuática es máxima. A lo largo del gradiente longitudinal, los arroyos reciben desde la cuenca MOD de tamaño molecular grande, de alta aromaticidad y contenido de lignina. En los arroyos de cabecera los procesos de degradación de la MOD se encuentran limitados debido al corto tiempo de retención del agua dadas sus fuertes pendientes y caudales. Los arroyos desembocan en lagos ultraoligotróficos que reciben, metabolizan e incorporan en su trama trófica los materiales alóctonos.

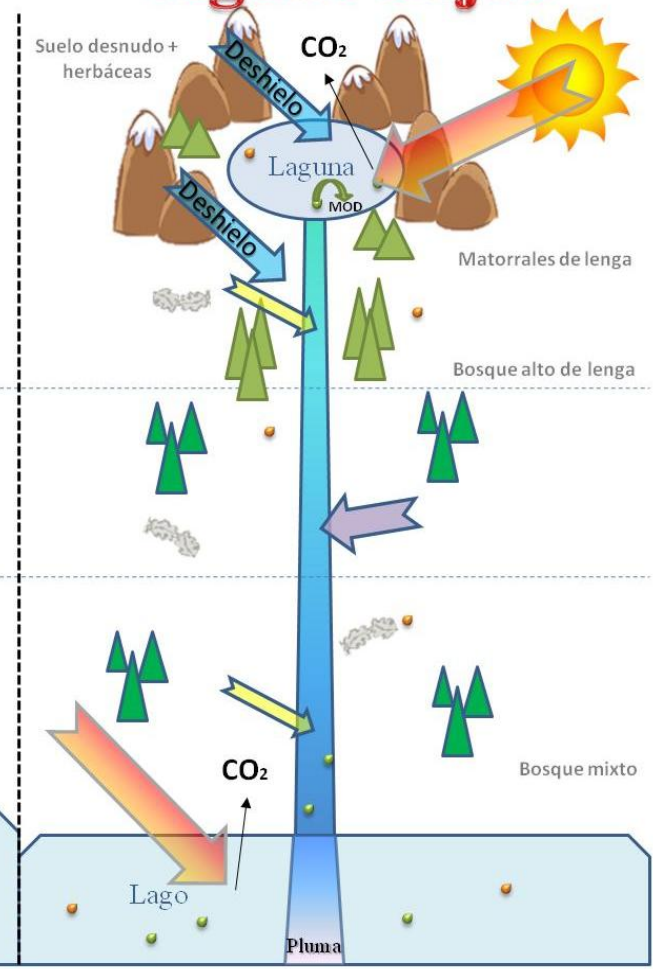
En períodos secos (primavera-verano) se reduce la conexión con los ambientes terrestres y el deshielo de las cumbres aporta al caudal, arrastrando MOD procesada en los suelos, de menor aromaticidad. En la desembocadura de los arroyos, la menor velocidad del agua y el bosque abierto favorecen el desarrollo de los productores primarios. En época estival el aporte alóctono conducido por la red de drenaje hacia los lagos pedemontanos es menor reflejando la menor conectividad entre la cuenca y los sistemas acuáticos.



Crecidas



Aguas bajas



AGRADECIMIENTOS

Los fondos para la realización de este estudio fueron aportados por los siguientes subsidios de investigación:

-**CONICET** PIP 11220100100064.

-**ANPCyT** PICT 2012-1200 y PICT 2013-1384.

-**Universidad Nacional del Comahue** Programa B166.

Quiero agradecer a la **Municipalidad de San Carlos de Bariloche** y a la **Administración del Parque Nacional Nahuel Huapi (APN)** por concedernos los permisos para la toma de muestras en los arroyos y lagos de su jurisdicción.

A mis directoras **María Diéguez** y **Mariana Reissig**, por haberme formado como profesional durante todos estos años, dándome la oportunidad de ingresar en el mundo científico. Gracias por su apoyo y comprensión en los momentos difíciles, por su paciencia, por compartir sus experiencias y conocimientos conmigo, por estar siempre dispuestas a ayudarme, trabajando codo a codo a mi lado, ya sea escribiendo o subiendo a la cima de una montaña.

A los jurados de esta tesis, **Ricardo Albariño**, **Verónica Díaz Villanueva** e **Inés O'Farrell**, por sus valiosos comentarios que mejoraron con creces la escritura de este manuscrito.

A **Lorena Nicolás**, el amor de mi vida, quien me ha acompañado durante todo este proceso, soportando mis viajes, mis largas horas de trabajo, mis enojos cuando las cosas no salían como yo quería. Gracias por estar siempre a mi lado.

A **Patricia García**, por sus incontables horas de trabajo desarrollando software y analizando datos, sin las cuales hubiese sido imposible esta tesis. Gracias por guiarme y ayudarme siempre.

A mis padres, **Eduardo García** y **Eliana Riquelme**, que me han cuidado y amado incondicionalmente. Las cosas buenas de mi vida son producto de su esfuerzo, gracias por enseñarme a ser buena persona.

A **Laura García** y **Sofía Caceres**, por hacerme reír con sus ocurrencias. Las extraño siempre.

A la **familia Nicolás**, mi familia postiza, por tantas comidas y lindos momentos compartidos.

A **Carolina Soto**, mi gran amiga, con la que nos hemos formado juntos en este largo camino universitario, compartiendo risas y penas.

A **Fabián Jara**, mi consejero desde que yo era tesista, por las horas de risa que hemos compartido y por su amistad sincera

A **Claudia Queimaliños**, por transmitirnos sus conocimientos y guiarnos no sólo académicamente, sino también en la vida.

A **Ricardo Albariño**, por facilitarnos sus equipos para los muestreos y por su invaluable aporte en la preparación de esta tesis.

A **Marina Gereá**, por sus valiosas horas de trabajo contando un sin fin de bacterias.

A **George Aiken**, por guiar a nuestro grupo en el complejo mundo de la materia orgánica.

A **CONICET**, cuyo financiamiento a través de las Becas de Tipo I y Tipo II permitió el desarrollo de mis estudios de doctorado.

A la **Universidad Nacional del Comahue**, institución en la que me he formado académicamente.

A la **Comisión de Doctorado**, a **Patricia Gaglioti** y **Gustavo Pagliari**, por su predisposición y trabajo.

A mis amigos **Cristian Davies**, **Juan Valousek**, **Ignacio Ampuero Vega**, **Dominik Geray**, **Gustavo Mariluan** y **Emilia Amadio**, por su invaluable esfuerzo como ayudantes de campo, quienes me acompañaron en la montaña sin importar el cansancio.

A mis compañeros del Fotolab, **Lina Moreno**, **Marcelo Bonino**, **Daniela Milano**, **Gabriela Perotti**, **Félix Cruz**, **Diego Añón Suarez**, **Mariana Pueta**, **Gonzalo Pérez**, **Patricia Pérez** y **Corina Coviaga**, con quienes he convivido y compartido tantas experiencias durante estos cinco años.

A **Natalia Piunno** y a **Juan Andriach**, por levantarme el ánimo con cervezas y papas fritas cuando estaba fastidiado, y por su valioso aporte como revisores de la tesis.

A mis amigos de la universidad, **Gonzalo Ignazi**, **Manuela Calvo**, **Amaru Magnin**, **Pablo Alarcón**, **Karen Lediuk**, **Santiago Juarez** y **Santiago Aisen**, con los que he recorrido gran parte de este camino.

A mis amigos, **Victoria Higuera**, **Nelson del Moral**, **Romina Juncos**, **Juan Barriga** y **Cecilia Mestre**, por los asados y salidas cerveceras.

A mi equipo de fútbol (**PQTT**), de padel (**Los Manquitos**) y de acrobacia (**Kamikazes**), por las risas y las descargas de tensión acumuladas.

A **Mirtha** y a **Belén**, por todas las botellitas que me consiguieron.

BIBLIOGRAFÍA



- Abboudi, M., Jeffrey, W.H., Ghiglione, J.F., Pujo-Pay, M., Oriol, L., Sempere, R., et al., 2008. Effects of photochemical transformations of dissolved organic matter on bacterial metabolism and diversity in three contrasting coastal sites in the Northwestern Mediterranean Sea during summer. *Microbial Ecology* 55, 344-357.
- Adrian, R., O'Reilly, C.M., Zagarese, H., Baines, S.B., Hessen, D.O., Keller, W., et al., 2009. Lakes as sentinels of climate change. *Limnology and Oceanography* 54, 2283-2297.
- Agren, A., Buffam, I., Berggren, M., Bishop, K., Jansson, M., Laudon, H., 2008. Dissolved organic carbon characteristics in boreal streams in a forest-wetland gradient during the transition between winter and summer. *Journal of Geophysical Research: Biogeosciences* 113, G03031.
- Agren, A.M., Haei, M., Blomkvist, P., Nilsson, M.B., Laudon, H., 2012. Soil frost enhances stream DOC concentrations during episodic spring snowmelt from boreal mires. *Global Change Biology* 18, 1895-1903.
- Aiken, G.R., McKnight, D.M., Thorn, K.A., Thurman, E.M., 1992. Isolation of hydrophilic organic acids from water using nonionic macroporous resins. *Organic Geochemistry* 18(4), 567-573.
- Aiken, G.R., Leenheer, J., 1993. Isolation and chemical characterization of dissolved and colloidal organic matter. *Chemistry and Ecology* 8(3), 135-151.
- Aiken, G.R., Gilmour, C.C., Krabbenhoft, D.P., Orem, W., 2011. Dissolved organic matter in the Florida Everglades: Implications for ecosystem restoration. *Critical Reviews in Environmental Science and Technology* 41(S1), 217-248.
- Aiken, G.R., 2014. Fluorescence and dissolved organic matter: a chemist's perspective. En: *Aquatic Organic Matter Fluorescence*. Coble, P.G., Lead, J., Baker, A., Reynolds, D., Spencer, R.G.M. (Eds). Cambridge University Press, New York, 35-74.
- Aitkenhead, J.A., Hope, D., Billett, M.F., 1999. The relationship between dissolved organic carbon in stream water and soil organic carbon pools at different spatial scales. *Hydrological Processes* 13, 1289-1302.
- Aitkenhead-Peterson, J., McDowell, W., Neff, J., Stuart, E., Robert, L., 2003. Sources, production, and regulation of allochthonous dissolved organic matter inputs to surface waters. En: *Aquatic Ecosystems: Interactivity of Dissolved Organic Matter*. Findlay, S.E.G., Sinsabaugh, R.L. (Eds). Academic Press, San Diego, 25-70.
- Albariño, R.J., Díaz Villanueva, V., 2006. Feeding ecology of two plecopterans in low order Andean Patagonian streams. *International Review of Hydrobiology* 91(2), 122-135.

- Albariño, R.J., Díaz Villanueva, V., Buria, L., 2009. Leaf litter dynamics in a forested small Andean catchment, Northern Patagonia, Argentina. *Ecological Advances on Chilean Temperate Rainforests*. Academia Press, Bélgica, 183-211.
- Allan, J.D., Castillo, M.M., 2007. *Stream ecology: Structure and function of running waters*. Allan, J.D., Castillo, M.M. (Eds.). Springer Science & Business Media, Holanda, 436 pp.
- Alonso, M., Vigliano, P., Lippolt, G., Denegri, A., Macchi, P. J., Asorey, M.G., et al., 2003. Informe Pesca y Batimetría en el lago Moreno durante el período 1999-2001. Universidad Nacional del Comahue, 27 pp.
- Andersson, S., Nilsson, S.I., Saetre, P., 2000. Leaching of dissolved organic carbon (DOC) and dissolved organic nitrogen (DON) in mor humus as affected by temperature and pH. *Soil Biology and Biochemistry* 32, 1-10.
- APHA, 2005. *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*. 21st ed. American Public Health Association, Washington, D.C., 541 pp.
- Asano, Y., Uchida, T., Mimasu, Y., Ohte, N., 2009. Spatial patterns of stream solute concentrations in a steep mountainous catchment with a homogeneous landscape. *Water Resources Research* 45(10), 1944-1973.
- Aufdenkampe, A.K., Mayorga, E., Raymond, P.A., Melack, J.M., Doney, S.C., Alin, S.R., et al., 2011. Riverine coupling of biogeochemical cycles between land, oceans, and atmosphere. *Frontiers in Ecology and the Environment* 9(1), 53-60.
- Ayris, P.M., Delmelle, P., 2012. The immediate environmental effects of tephra emission. *Bulletin of Volcanology* 74(9), 1905-1936.
- Azam, F., Fenchel, T., Field, J.G., Gray, J.S., Meyer-Reil, L.A., Thingstad, F., 1983. The ecological role of water-column microbes in the sea. *Estuaries* 50(2), 257-262
- Azam, F., Cho, B.C., 1987. Bacterial utilization of organic matter in the sea. En: *Ecology of microbial Communities*. Fletcher, M., Gray, T.R.G., Jones, J.G. (Eds). Cambridge University Press, Cambridge, 261-281.
- Bachmann, R., Canfield Jr., D., 1996. Use of an alternative method for monitoring total nitrogen concentrations in Florida lakes. *Hydrobiologia* 323(1), 1-8.
- Baker, M.A., Valett, H.M., Dahm, C.N., 2000. Organic carbon supply and metabolism in a shallow groundwater ecosystem. *Ecology* 81, 3133-3148.
- Balcarczyk, K.L., Jones, J.B.R., Maie, N., 2009. Stream dissolved organic matter bioavailability and composition in watersheds underlain with discontinuous permafrost. *Biogeochemistry* 94, 255-270.

- Balseiro, E., Souza, M.S., Serra Olabuenaga, I., Wolinski, L., Bastidas Navarro, M., Laspoumaderes, C., Modenutti, B., 2014. Effect of the Puyehue-Cordon Caulle volcanic complex eruption on crustacean zooplankton of Andean lakes. *Ecología Austral* 24, 75-82.
- Bastidas Navarro, M., Modenutti, B., 2012. Precipitation patterns, dissolved organic matter and changes in the plankton assemblage in Lake Escondido (Patagonia, Argentina). *Hydrobiologia* 691, 189-202.
- Bastidas Navarro, M., Balseiro, E., Modenutti, B., 2014. Bacterial community structure in Patagonian Andean Lakes above and below timberline: From community composition to community function. *Microbial Ecology* 68(3), 528-541.
- Battin, T.J., Kaplan, L.A., Findlay, S., Hopkinson, C.S., Marti, E., Packman, A.I., et al., 2008. Biophysical controls on organic carbon fluxes in fluvial networks. *Nature Geoscience* 1(2), 95-100.
- Battin, T.J., Luyssaert, S., Kaplan, L.A., Aufdenkampe, A.K., Richter, A., Tranvik, L.J., 2009. The boundless carbon cycle. *Nature Geoscience* 2(9), 598-600.
- Benner, R., 2003. Molecular indicators of the bioavailability of dissolved organic matter. En: *Aquatic Ecosystems: Interactivity of Dissolved Organic Matter*. Findlay, S.E.G., Sinsabaugh, R.L. (Eds). Academic Press, San Diego, 121-137.
- Benner, R., Kaiser, K., 2011. Biological and photochemical transformations of amino acids and lignin phenols in riverine dissolved organic matter. *Biogeochemistry* 102(1-3), 209-222.
- Bergamaschi, B.A., Smith, R.A., Sauer, M.J., Shih, J.S., 2012. Terrestrial fluxes of sediments and nutrients to Pacific coastal waters and their effects on coastal carbon storage rates. En: *Climate projections used for the assessment of the Western United States*. Zhu, Z., Reed, B.C. (Eds.). US Geological Survey, Reston. Professional Paper 1797, 143-158.
- Berggren, M., Del Giorgio, P.A., 2015. Distinct patterns of microbial metabolism associated to riverine dissolved organic carbon of different source and quality. *Journal of Geophysical Research: Biogeosciences* 120(6), 989-999.
- Bermúdez, A., Delpino, D., 2011. La actividad el volcán Puyehue y su impacto sobre el territorio de la República Argentina. *Primer Informe*, Neuquén 14, 16 pp.
- Bessera, E.M., Moretti, A.E., 1993. Propuesta de desarrollo productivo integrado agro-silvo-pastoril para Colonia Suiza. 1) Lineamientos y Directrices Generales de manejo. *Prov. de Río Negro: Convenio Univ. Nac. Comahue*.

- Birdwell, J.E., Engel, A.S., 2010. Characterization of dissolved organic matter in cave and spring waters using UV–Vis absorbance and fluorescence spectroscopy. *Organic Geochemistry* 41(3), 270-280.
- Bischoff, S., Schwarz, M. T., Siemens, J., Thieme, L., Wilcke, W., Michalzik, B., 2015. Properties of dissolved and total organic matter in throughfall, stemflow and forest floor leachate of central European forests. *Biogeosciences* 12(9), 2695-2706.
- Blair, R.C., Sawilowsky, S.S., Higgins, J.J., 1987. Limitations of the rank transform statistic in test for interactions. *Communications in Statistics: Simulation and Computation* 16(4), 1133-1145.
- Boyer, E.W., Hornberger, G.M., Bencala, K.E., Mcknight, D.M., 1997. Response characteristics of DOC flushing in an alpine catchment. *Hydrological Processes* 11, 1635-1647.
- Breton, J., Vallieres, C., Laurion, I., 2009. Limnological properties of permafrost thaw ponds in northeastern Canada. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 66(10), 1635-1648.
- Brooks, P.D., McKnight, D.M., Bencala, K.E., 1999. The relationship between soil heterotrophic activity, soil dissolved organic carbon (DOC) lechate, and catchment-scale DOC export in headwater catchments. *Water Resources Research* 35, 1895-1902.
- Burns, D.A., Plummer, L.N., McDonnell, J.J., Busenberg, E., Casile, G.C., Kendall, C., et al., 2003. The geochemical evolution of riparian ground water in a forested piedmont catchment. *Groundwater* 41(7), 913-925.
- Burrows, R.M., Fellman, J.B., Magierowski, R.H., Barmuta L.A., 2013. Allochthonous dissolved organic matter controls bacterial carbon production in old-growth and clearfelled headwater streams. *Freshwater Science* 32(3), 821-836.
- Butman, D., Raymond, P.A., 2011. Significant efflux of carbón dioxide from streams and rivers in the United States. *Nature Geoscience* 4, 839-842.
- Caraco, N., Cole, J., 2004. When terrestrial organic matter is sent down the river: the importance of allochthonous carbon inputs to the metabolism of lakes and rivers. *Food Webs at the Landscape Level*, 301-316.
- Cardona, C., Basualto, D., Franco, L., Gil, F., Valderrama, A., 2012. Actividad sísmica relacionada con la erupción del Complejo Volcánico Cordón Caulle – Chile, Junio 4 de 2011. XIII Congreso Geológico Chileno, agosto 5- 9, Antofagasta, Chile.
- Catalán, N., Obrador, B., Felip, M., Pretus, J. L., 2013. Higher reactivity of allochthonous vs. autochthonous DOC sources in a shallow lake. *Aquatic Sciences* 75(4), 581-593.

- Catalán, N., Obrador, B., Pretus, J.L., 2014. Ecosystem processes drive dissolved organic matter quality in a highly dynamic water body. *Hydrobiologia* 728(1), 111-124.
- Cawley, K.M., Ding, Y., Fourqurean, J., Jaffé, R., 2012. Characterising the sources and fate of dissolved organic matter in Shark Bay, Australia: a preliminary study using optical properties and stable carbon isotopes. *Marine & Freshwater Research* 63(11), 1098-1107.
- Cawley, K., Campbell, J., Zwilling, M., Jaffé, R., 2014. Evaluation of forest disturbance legacy effects on dissolved organic matter characteristics in streams at the Hubbard Brook Experimental Forest, New Hampshire. *Aquatic Sciences* 76(4), 611-622.
- Chaneton, E.J., Mazía, N., Garibaldi, L.A., Chaij, J., Kitzberger, T., 2014. Impacto de la deposición de ceniza volcánica sobre la productividad foliar y la herbivoría por insectos en bosques deciduos del norte de la Patagonia. *Ecología Austral* 24 (1), 51-63.
- Chantigny, M.H., Harrison-Kirk, T., Curtin, D., Beare, M., 2014. Temperature and duration of extraction affect the biochemical composition of soil water-extractable organic matter. *Soil Biology and Biochemistry* 75, 161-166.
- Chapin III, F.S., Woodwell, G.M., Randerson, J.T., Rastetter, E.B., Lovett, G.M., Baldocchi, D.D., et al., 2006. Reconciling carbon-cycle concepts, terminology, and methods. *Ecosystems* 9(7), 1041-1050.
- Chen, M., Jaffé, R. 2014. Photo- and bio-reactivity patterns of dissolved organic matter from biomass and soil leachates and surface waters in a subtropical wetland. *Water Research* 61, 181-190.
- Church, J.A., Clark, P.U., Cazenave, A., Gregory, J. M., Jevrejeva, S., Levermann, A., et al., 2013. Sea level change. *Climate Change 2013: The Physical Science Basis*, 1137-1216.
- Cleveland, C.C., Neff, J.C., Townsend, A.R., Hood, E., 2004. Composition, dynamics, and fate of leached dissolved organic matter in terrestrial ecosystems: results from a decomposition experiment. *Ecosystems* 7(3), 175-285.
- Coble, P.G., 1996. Characterization of marine and terrestrial DOM in seawater using excitation–emission matrix spectroscopy. *Marine Chemistry* 51, 325-346.
- Coble, P.G., 2007. Marine optical biogeochemistry: The chemistry of ocean color. *Chemical Reviews* 107(2), 402-418.
- Coble, P.G., Del Castillo, C.E., Avril, B. 1998. Distribution and optical properties of CDOM in the Arabian Sea during the 1995 Southwest Monsoon. *Deep-Sea Research II* 45, 2195-2223.

- Cole, J.J., Carpenter, S.R., Pace, M.L., Van de Bogert, M.C., Kitchell, J.L., Hodgson, J.R., 2006. Differential support of lake food webs by three types of terrestrial organic carbon. *Ecology Letters* 9(5), 558-568.
- Cole, J.J., Prairie, Y.T., Caraco, N.F., McDowell, W.H., Tranvik, L.J., Striegl, R.G., et al., 2007. Plumbing the global carbon cycle: integrating inland waters into the terrestrial carbon budget. *Ecosystems* 10(1), 172-185.
- Cory, R.M., McKnight, D.M., 2005. Fluorescence spectroscopy reveals ubiquitous presence of oxidized and reduced quinones in dissolved organic matter. *Environmental Science & Technology* 39, 8142-8149.
- Cory, R.M., Miller, M.P., McKnight, D.M., Guerard, J.J., Miller, P.L., 2010. Effect of instrument-specific response on the analysis of fulvic acid fluorescence spectra. *Limnology and Oceanography: Methods* 8(2), 67-78.
- Cory, R.M., Kaplan, L.A., 2012. Biological lability of streamwater fluorescent dissolved organic matter. *Limnology and Oceanography* 57(5), 1347-1360.
- Cory, R.M., Harrold, K.H., Neilson, B.T., Kling, G.W., 2015. Controls on dissolved organic matter (DOM) degradation in a headwater stream: the influence of photochemical and hydrological conditions in determining light-limitation or substrate-limitation of photo-degradation. *Biogeosciences Discussions* 12(13), 9793-9838.
- Creed, I.F., McKnight, D.M., Pellerin, B.A., Green, M.B., Bergamaschi, B.A., Aiken, G.R., et al., 2015. The river as a chemostat: Fresh perspectives on dissolved organic matter flowing down the river continuum. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 72, 1272-1285.
- Cuss, C.W., Guéguen, C., 2012. Determination of relative molecular weights of fluorescent components in dissolved organic matter using asymmetrical flow field-flow fractionation and parallel factor analysis. *Analytica Chimica Acta* 733, 98-102.
- Daga, R., Ribeiro Guevara, S., Sánchez, M.L., Arribére, M., 2008. Source identification of volcanic ashes by geochemical analysis of well preserved lacustrine tephras in Nahuel Huapi National Park. *Applied Radiation and Isotopes* 66, 1325-1336.
- Daga, R., Guevara, S.R., Poire, D.G., Arribére, M., 2014. Characterization of tephras dispersed by the recent eruptions of volcanoes Calbuco (1961), Chaitén (2008) and Cordón Caulle Complex (1960 and 2011), in Northern Patagonia. *Journal of South American Earth Sciences* 49, 1-14.
- Daniels, L.D., Veblen, T.T., 2003. Altitudinal treelines of the southern Andes near 40°S. *The Forestry Chronicle* 79 (2), 237-241.

- De Laurentiis, E., Minella, M., Maurino, V., Minero, C., Brigante, M., Mailhot, G., et al., 2012. Photochemical production of organic matter triplet states in water samples from mountain lakes, located below or above the tree line. *Chemosphere* 88(10), 1208-1213.
- Del Giorgio, P.A., Pace, M.L., 2008. Relative independence of organic carbon transport and processing in a large temperate river: The Hudson River as both pipe and reactor. *Limnology and Oceanography* 53(1), 185-197.
- Del Vecchio, R., Blough, N.V., 2002. Photobleaching of chromophoric dissolved organic matter in natural waters: Kinetics and modeling. *Marine Chemistry* 78(4), 231-253.
- Del Vecchio, R., Blough, N.V., 2004. Spatial and seasonal distribution of chromophoric dissolved organic matter and dissolved organic carbon in the Middle Atlantic Bight. *Marine Chemistry* 89, 169-187.
- Díaz Villanueva, V., Buria, L., Albariño, R., 2010. Primary consumers and resources: annual variation in two contrasting reaches of a Patagonian mountain stream. *Annales de Limnologie - International Journal of Limnology* 46, 21-28.
- Díaz, S.B., Booth, C.R., Smolskaia, I., 1994. Effects of ozone depletion on irradiances and biological doses over Ushuaia. *Advances in Limnology* 43, 115-122.
- Díaz, S.B., Camilión, C., Deferrari, G., Fuenzalida, H., Armstrong, R., Booth, C., et al., 2006. Ozone and UV Radiation over Southern South America: Climatology and Anomalies. *Photochemistry and Photobiology*, 82, 834-843.
- Díaz, S.B., Paladini, A.A., Braile, H.G., Dieguez, M.C., Deferrari, G.A., Vernet, M., et al., 2014. Global and direct UV irradiance variation in the Nahuel Huapi National Park (Patagonia, Argentina) after the eruption of Puyehue-Cordon Caulle (Chile). *Journal of Atmospheric and Solar-Terrestrial Physics* 112, 47-56.
- Dick, J.J., Tetzlaff, D., Birkel, C., Soulsby, C., 2014. Modelling landscape controls on dissolved organic carbon sources and fluxes to streams. *Biogeochemistry* 122(2-3), 361-374.
- Diéguez, M.C., Queimaliños, C.P., Ribeiro Guevara, S., Marvin-DiPasquale, M., Soto Cárdenas, C., Arribére, M.A., 2013. Influence of dissolved organic matter character on mercury incorporation by planktonic organisms: an experimental study using oligotrophic water from Patagonian lakes. *Journal of Environmental Sciences* 25(11), 1980-1991.
- Diehl, P., Mazzarino, M.J., Funes, F., Fontenla, S., Gobbi, M., Ferrari, J., 2003. Nutrient conservation strategies in native Andean Patagonian forests. *Journal of Vegetation Science* 14 (1), 63-70.

- Dodds, W.K., Jones, J.R., Welch, E.B., 1998. Suggested classification of stream trophic state: Distributions of temperate stream types by chlorophyll, total nitrogen, and phosphorus. *Water Research* 32(5), 1455-1462.
- Don, A., Kalbitz, K., 2005. Amounts and degradability of dissolved organic carbon from foliar litter at different decomposition stages. *Soil Biology and Biochemistry* 37(12), 2171-2179.
- Downing, J.A., Cole, J.J., Duarte, C.M., Middelburg, J.J., Melack, J.M., Prairie, Y.T., et al., 2012. Global abundance and size distribution of streams and rivers. *Inland Waters* 2, 229-236.
- Duarte, C.M., Prairie, Y.T., 2005. Prevalence of heterotrophy and atmospheric CO₂ emissions from aquatic ecosystems. *Ecosystems* 8(7), 862-870.
- Elser, J.J., Bastidas, M., Corman, J.R., Emick, H., Kellom, M., Laspoumaderes, C., et al., 2015. Community structure and biogeochemical impacts of microbial life on floating pumice. *Applied and Environmental Microbiology* 81(5), 1542-1549.
- Erickson III, D.J., Sulzberger, B., Zepp, R.G., Austin, A.T., 2015. Effects of stratospheric ozone depletion, solar UV radiation, and climate change on biogeochemical cycling: interactions and feedbacks. *Photochemical & Photobiological Sciences* 14(1), 127-148.
- Fasching, C., Battin, T.J., 2012. Exposure of dissolved organic matter to UV-radiation increases bacterial growth efficiency in a clear-water Alpine stream and its adjacent groundwater. *Aquatic Sciences* 74(1), 143-153.
- Fasching, C., Behounek, B., Singer, G.A., Battin, T.J., 2014. Microbial degradation of terrigenous dissolved organic matter and potential consequences for carbon cycling in brown-water streams. *Scientific Reports* 4. N° artículo 4981.
- Fellman, J.B., D'Amore, D.V., Hood, E., Boone, R.D., 2008. Fluorescence characteristics and biodegradability of dissolved organic matter in forest and wetland soils from coastal temperate watersheds in southeast Alaska. *Biogeochemistry* 88(2), 169-184.
- Fellman, J.B., Hood, E., Edwards, R.T., D'Amore, D.V., 2009. Changes in the concentration, biodegradability, and fluorescent properties of dissolved organic matter during stormflows in coastal temperate watersheds. *Journal of Geophysical Research* 114, G01021.
- Fellman, J.B., Hood, E., Spencer, R.G., 2010. Fluorescence spectroscopy opens new windows into dissolved organic matter dynamics in freshwater ecosystems: A review. *Limnology and Oceanography* 55(6), 2452-2462.

- Fellman, J.B., Petrone, K.C., Grierson, P.F., 2013. Leaf litter age, chemical quality, and photodegradation control the fate of leachate dissolved organic matter in a dryland river. *Journal of Arid Environments* 89, 30-37.
- Ferrari, G.M., Mingazzini, M., 1995. Synchronous fluorescence spectra of dissolved organic matter (DOM) of algal origin in marine coastal waters. *Marine Ecology Progress Series*. Oldendorf 125(1), 305-315.
- Ferrari, G.M., 2000. The relationship between chromophoric dissolved organic matter and dissolved organic carbon in the European Atlantic coastal area and in the West Mediterranean Sea (Gulf of Lions). *Marine Chemistry* 70(4), 339-357.
- Fichot, C.G., Benner, R., 2012. The spectral slope coefficient of chromophoric dissolved organic matter ($S_{275-295}$) as a tracer of terrigenous dissolved organic carbon in river-influenced ocean margins. *Limnology and Oceanography* 57 (5), 1453.
- Findlay, S.E.G., Sinsabaugh, R.L., 2003. Interactivity of Dissolved Organic Matter. Findlay, S.E.G., Sinsabaugh, R.L. (Eds). Academic Press, San Diego, 512 pp.
- Finlay, J.C., Neff, J.C., Zimov, S., Davydova, A., Savydov, S., 2006. Snowmelt dominance of dissolved organic carbon in high-latitude watersheds: Implications for characterization and flux of river DOC. *Geophysical Research Letters* 33, L10401.
- Fischer, H., 2003. The role of biofilms in the uptake and transformation of dissolved organic matter. En: *Aquatic Ecosystems: Interactivity of Dissolved Organic Matter*. Findlay, S.E.G., Sinsabaugh, R.L. (Eds). Academic Press, San Diego, 285-313.
- Fisher, S.G., Sponseller, R.A., Heffernan, J.B., 2004. Horizons in stream biogeochemistry: flowpaths to progress. *Ecology* 85(9), 2369-2379.
- Flannigan, M.D., Krawchuk, M.A., de Groot, W.J., Wotton, B.M., Gowman, L.M., 2009. Implications of changing climate for global wildland fire. *International Journal of Wildland Fire* 18(5), 483-507.
- Fleck, J.A., Gill, G., Bergamaschi, B.A., Kraus, T.E., Downing, B.D., Alpers, C.N., 2014. Concurrent photolytic degradation of aqueous methylmercury and dissolved organic matter. *Science of the Total Environment* 484, 263-275.
- Frank, D., Reichstein, M., Bahn, M., Thonicke, K., Frank, D., Mahecha, M.D., et al., 2015. Effects of climate extremes on the terrestrial carbon cycle: concepts, processes and potential future impacts. *Global Change Biology* 21 (8), 2861-2880.
- García, P.E., Añón Suárez, D.A., 2007. Community structure and phenology of chironomids (Insecta: Chironomidae) in a Patagonian Andean stream. *Limnologica* 37 (1), 109-117.

- García, P.E., Diéguez, M.C., Queimaliños, C., 2015a. Landscape integration of North Patagonian mountain lakes: a first approach using characterization of dissolved organic matter. *Lakes & Reservoirs: Research & Management* 20(1), 19-32.
- García, R.D., Reissig, M., Queimaliños, C.P., García, P.E., Diéguez, M.C., 2015b. Climate-driven terrestrial inputs in ultraoligotrophic mountain streams of Andean Patagonia revealed through chromophoric and fluorescent dissolved organic matter. *Science of the Total Environment* 521, 280-292.
- Goodman, K. J., Baker, M.A., Wurtsbaugh, W.A., 2011. Lakes as buffers of stream dissolved organic matter (DOM) variability: Temporal patterns of DOM characteristics in mountain stream-lake systems. *Journal of Geophysical Research: Biogeosciences* 116, G00N02.
- Graeber, D., Gelbrecht, J., Pusch, M.T., Anlanger, C., von Schiller, D., 2012. Agriculture has changed the amount and composition of dissolved organic matter in Central European headwater streams. *Science of the Total Environment* 438, 435-446.
- Green, S.A., Blough, N.V., 1994. Optical absorption and fluorescence properties of chromophoric dissolved organic matter in natural waters. *Limnology and Oceanography* 39(8), 1903-1916.
- Grimm, N. B., Chapin III, F. S., Bierwagen, B., Gonzalez, P., Groffman, P. M., Luo, Y., et al., 2013. The impacts of climate change on ecosystem structure and function. *Frontiers in Ecology and the Environment* 11(9), 474-482.
- Guillemette, F., Del Giorgio, P.A., 2011. Reconstructing the various facets of dissolved organic carbon bioavailability in freshwater ecosystems. *Limnology and Oceanography* 56(2), 734-748.
- Guillemette, F., Del Giorgio, P.A., 2012. Simultaneous consumption and production of fluorescent dissolved organic matter by lake bacterioplankton. *Environmental Microbiology* 14, 1432-1443.
- Häder, D.P., Kumar, H.D., Smith, R.C., Worrest, R.C., 2007. Effects of solar UV radiation on aquatic ecosystems and interactions with climate change. *Photochemical & Photobiological Sciences* 6(3), 267-285.
- Häder, D.P., Helbling, E.W., Williamson, C.E. Worrest, R.C., 2011. Effects of UV radiation on aquatic ecosystems and interactions with climate change. *Photochemical & Photobiological Sciences* 10, 242-260.

- Häder, D.P., Williamson, C.E., Wangberg, S.A., Rautio, M., Rose, K.C., Gao, K., et al., 2015. Effects of UV radiation on aquatic ecosystems and interactions with other environmental factors. *Photochemical & Photobiological Sciences* 14(1), 108-126.
- Hall, M.L., Robin, C., Beate, B., Mothes, P., Monzier, M., 1999. Tungurahua Volcano, Ecuador: structure, eruptive history and hazards. *Journal of Volcanology and Geothermal Research* 91(1), 1-21.
- Hansell, D.A., Carlson, C.A., Repeta, D.J., Schlitzer, R., 2009. Dissolved organic matter in the ocean: A controversy stimulates new insights. *Oceanography* 22, 202-211.
- Hanson, P.C., Pollard, A.I., Bade, D.L., Predick, K., Carpenter, S.R., Foley, J.A., 2004. A model of carbon evasion and sedimentation in temperate lakes. *Global Change Biology* 10(8), 1285-1298.
- He, X.S., Xi, B.D., Wei, Z.M., Jiang, Y.H., Yang, Y., An, D., et al., 2011. Fluorescence excitation–emission matrix spectroscopy with regional integration analysis for characterizing composition and transformation of dissolved organic matter in landfill leachates. *Journal of Hazardous Materials* 190(1), 293-299.
- Hedges, J.I., Eglinton, G., Hatcher, P.G., Kirchman, D.L., Arnosti, C., Derenne, S., et al., 2000. The molecularly-uncharacterized component of nonliving organic matter in natural environments. *Organic Geochemistry* 31(10), 945-958.
- Helms, J.R., Stubbins, A., Ritchie, J.D., Minor, E.C., Kieber, D.J., Mopper, K., 2008. Absorption spectral slopes and slope ratios as indicators of molecular weight, source and photobleaching of chromophoric dissolved organic matter. *Limnology and Oceanography* 53, 955-969.
- Helms, J.R., Stubbins, A., Perdue, E.M., Green, N.W., Chen, H., Mopper, K., 2013. Photochemical bleaching of oceanic dissolved organic matter and its effect on absorption spectral slope and fluorescence. *Marine Chemistry* 155, 81-91.
- Helms, J. R., Mao, J., Stubbins, A., Schmidt-Rohr, K., Spencer, R. G., Hernes, P. J., et al., 2014. Loss of optical and molecular indicators of terrigenous dissolved organic matter during long-term photobleaching. *Aquatic Sciences* 76(3), 353-373.
- Henderson, R.K., Baker, A., Murphy, K.R., Hambly, A., Stuetz, R.M., Khan, S.J., 2009. Fluorescence as a potential monitoring tool for recycled water systems: A review. *Water Research* 43(4), 863-881.
- Hernes, P.J., Benner, R., 2003. Photochemical and microbial degradation of dissolved lignin phenols: implications for the fate of terrigenous dissolved organic matter in marine environments. *Journal of Geophysical Research: Oceans* 108 (C9), 1-7

- Hessen, D.O., Tranvik, L.J., 1998. *Aquatic Humic Substances: Ecology and Biogeochemistry*. Springer-Verlag, Berlin, 146 pp.
- Hiriart-Baer, V.P., Diep, N., Smith, R.E.H., 2008. Dissolved organic matter in the Great Lakes: role and nature of allochthonous material. *Journal of Great Lakes Research* 34, 383-94.
- Hood, E., Williams, M.W., Mcknight, D.M., 2005. Sources of dissolved organic matter in a Rocky Mountain stream using chemical fractionation and stable isotopes. *Biogeochemistry* 74, 231-255.
- Hood, E., Gooseff, M.N., Johnson, S.L., 2006. Changes in the character of stream water dissolved organic carbon during flushing in three small watersheds, Oregon. *Journal of Geophysical Research: Biogeosciences* 111, G1007.
- Hosen, J.D., McDonough, O. T., Febria, C.M., Palmer, M.A., 2014. Dissolved organic matter quality and bioavailability changes across an urbanization gradient in headwater streams. *Environmental Science & Technology* 48, 7817-7824.
- Hruška, J., Köhler, S., Laudon, H., Bishop, K., 2003. Is a universal model of organic acidity possible: comparison of the acid/base properties of dissolved organic carbon in the boreal and temperate zones. *Science of the Total Environment* 37(9), 1726-1730.
- Huang, W., McDowell, W.H., Zou, X., Ruan, H., Wang, J., Li, L., 2013. Dissolved organic carbon in headwater streams and riparian soil organic carbon along an altitudinal gradient in the Wuyi Mountains, China. *PLoS ONE* 8(11), e78973.
- Huang, W., McDowell, W.H., Zou, X., Ruan, H., Wang, J., Ma, Z., 2015. Qualitative differences in headwater stream dissolved organic matter and riparian water-extractable soil organic matter under four different vegetation types along an altitudinal gradient in the Wuyi Mountains of China. *Applied Geochemistry* 52, 67-75.
- Hudson, N., Baker, A., Reynolds, D., 2007. Fluorescence analysis of dissolved organic matter in natural, waste and polluted waters—a review. *River Research and Applications* 23(6), 631-649.
- Hughes, R.M., Kaufmann, P.R., Weber, M.H., 2011. National and regional comparisons between Strahler order and stream size. *Journal of the North American Benthological Society* 30(1), 103-121.
- Huguet, A., Vacher, L., Relexans, S., Saubusse, S., Froidefond, J.M., Parlanti, E., 2009. Properties of fluorescent dissolved organic matter in the Gironde Estuary. *Organic Geochemistry* 40, 706-719.

- Hur, J., Park, M.H., Schlautman, M., 2009. Microbial transformation of dissolved leaf litter organic matter and its effects on selected organic matter operational descriptors. *Environmental Science & Technology* 43, 2315-2321.
- Hur, J., Jung, K.Y., Jung, Y.M., 2011. Characterization of spectral responses of humic substances upon UV irradiation using two-dimensional correlation spectroscopy. *Water Research* 45(9), 2965-2974.
- Inamdar, S., Finger, N., Singh, S., Mitchell, M., Levia, D., Bais, H., et al., 2012. Dissolved organic matter (DOM) concentration and quality in a forested mid-Atlantic watershed, USA. *Biogeochemistry* 108(1-3), 55-76.
- IPCC, 2014. *Climate Change 2014: Impacts, adaptation, and vulnerability. Part A: Global and sectoral aspects. Contribution of Working Group II to the Fifth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change.* Cambridge University Press, Cambridge, Reino Unido, y New York, Estados Unidos, 1132 pp.
- Iriondo, M., 1989. Quaternary lakes of Argentina. *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology* 70, 81-88.
- Ishii, S.K., Boyer, T.H., 2012. Behavior of reoccurring PARAFAC components in fluorescent dissolved organic matter in natural and engineered systems: A critical review. *Environmental Science & Technology* 46(4), 2006-2017.
- Jaffé, R., Boyer, J.N., Lu, X., Maie, N., Yang, C., Scully, N.M., Mock, S. 2004. Source characterization of dissolved organic matter in subtropical mangrove-dominated estuary by fluorescence analysis. *Marine Chemistry* 84, 195-210.
- Jaffé, R., McKnight, D., Maie, N., Cory, R., McDowell, W.H., Campbell, J.L., 2008. Spatial and temporal variations in DOM composition in ecosystems: The importance of long-term monitoring of optical properties. *Journal of Geophysical Research: Biogeosciences*, 113, G04032.
- Jaffé, R., Yamashita, Y., Maie, N., Cooper, W.T., Dittmar, T., Dodds, W.K., et al., 2012. Dissolved organic matter in headwater streams: Compositional variability across climatic regions of North America. *Geochimica et Cosmochimica Acta* 94, 95-108.
- Jaffé, R., Cawley, K. M., Yamashita, Y., 2014. Applications of excitation emission matrix fluorescence with parallel factor analysis (EEM-PARAFAC) in assessing environmental dynamics of natural dissolved organic matter (DOM) in aquatic environments: A review. *Advances in the Physicochemical Characterization of Dissolved Organic Matter: Impact on Natural and Engineered Systems* 1160, 27-73.

- Jansson, M., Persson, L., De Roos, A.M., Jones, R., Tranvik, L.J., 2007. Terrestrial carbon and intraspecific size-variation shape lake ecosystems. *Trends in Ecology & Evolution* 22, 316-22.
- Jiang, G., Ma, R., Loiselle, S.A. Duan, H., 2012. Optical approaches to examining the dynamics of dissolved organic carbon in optically complex inland waters. *Environmental Research Letters* 7, 034014.
- Jiao, N., Herndl, G.J., Hansell, D.A., Benner, R., Kattner, G., Wilhelm, S.W., 2010. Microbial production of recalcitrant dissolved organic matter: long-term carbon storage in the global ocean. *Nature Reviews Microbiology* 8(8), 593-599.
- Kaiser, K., Kalbitz, K., 2012. Cycling downwards—dissolved organic matter in soils. *Soil Biology and Biochemistry* 52, 29-32.
- Kalbitz, K., Solinger, S., Park, J. H., Michalzik, B., Matzner, E., 2000. Controls on the dynamics of dissolved organic matter in soils: a review. *Soil Science* 165(4), 277-304.
- Kalbitz, K., Schmerwitz, J., Schwesig, D., Matzner, E., 2003. Biodegradation of soil-derived dissolved organic matter as related to its properties. *Geoderma* 113, 273-291.
- Kalbitz, K., Schwesig, D., Rethemeyer, J., Matzner, E., 2005. Stabilization of dissolved organic matter by sorption to the mineral soil. *Soil Biology and Biochemistry* 37(7), 1319-1331.
- Kalbitz, K., Kaiser, K., Bargholz, J., Dardenne, P., 2006. Lignin degradation controls the production of dissolved organic matter in decomposing foliar litter. *European Journal of Soil Science* 57(4), 504-516.
- Kaplan, L.A., Newbold, J.D., 2003. The role of monomers in stream ecosystem metabolism. En: *Aquatic Ecosystems: Interactivity of Dissolved Organic Matter*. Findlay, S.E.G., Sinsabaugh, R.L. (Eds). Academic Press, San Diego, 97-119.
- Kaplan, L.A., Wiegner, T.N., Newbold, J.D., Ostrom, P.H., Gandhi, H., 2008. Untangling the complex issue of dissolved organic carbon uptake: a stable isotope approach. *Freshwater Biology* 53(5), 855-864.
- Karlsson, O.M., Richardson, J.S., Kiffney, P.M., 2005. Modelling organic matter dynamics in headwater streams of south-western British Columbia, Canada. *Ecological Modelling* 183(4), 463-476.
- Kellerman, A.M., Dittmar, T., Kothawala, D.N., Tranvik, L.J., 2014. Chemodiversity of dissolved organic matter in lakes driven by climate and hydrology. *Nature Communications* 5, 3804.

- Kieber, R.J., Zhou, X., Mopper, K., 1990. Formation of carbonyl compounds from UV-induced photodegradation of humic substances in natural waters: Fate of riverine carbon in the sea. *Limnology and Oceanography* 35(7), 1503-1515.
- Kitzberger, T., Blackhall, M., Cavallero, L., Ghermandi, L., Gowda, J., Heinemann, K., et al., 2014. Comunidades dinámicas. En: *Ecología e Historia Natural de la Patagonia Andina*. Raffaele, E., de Torres Curth, M., Morales, C.L., Kitzberger, T. (Eds.). Editorial Vazquez-Mazzini, Buenos Aires, 37-97.
- Klüser, L., Erbertseder, T., Meyer-Arneke, J., 2013. Observation of volcanic ash from Puyehue-Cordón Caulle with IASI. *Atmospheric Measurement Techniques* 6(1), 35-46.
- Kögel-Knabner, I., Ekschmitt, K., Flessa, H., Guggenberger, G., Matzner, E., Marschner, B., et al., 2008. An integrative approach of organic matter stabilization in temperate soils: Linking chemistry, physics, and biology. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science* 171(1), 5-13.
- Kothawala, D.N., Roehm, C., Blodau, C., Moore, T.R., 2012. Selective adsorption of dissolved organic matter to mineral soils. *Geoderma* 189, 334-342.
- Kowalczyk, P., Cooper, W.J., Durako, M.J., Kahn, A.E., Gonsior, M., Young, H., 2010. Characterization of dissolved organic matter fluorescence in the South Atlantic Bight with use of PARAFAC model: Relationships between fluorescence and its components, absorption coefficients and organic carbon concentrations. *Marine Chemistry* 118(1), 22-36.
- Kowalczyk, P., Tilstone, G.H., Zabłocka, M., Röttgers, R., Thomas, R., 2013. Composition of dissolved organic matter along an Atlantic Meridional Transect from fluorescence spectroscopy and Parallel Factor Analysis. *Marine Chemistry* 157, 170-184.
- Kritzberg, E.S., Cole, J.J., Pace, M.M., Granéli, W., 2005. Does autochthonous primary production drive variability in bacterial metabolism and growth efficiency in lakes dominated by terrestrial C inputs?. *Aquatic Microbial Ecology* 38(2), 103-111.
- Lakowicz, J.R., 2006. *Principles of Fluorescence Spectroscopy*. Springer, New York, 86 pp.
- Lallement, M.E., Juárez, S.M., Macchi, P.J., Vigliano, P.H., 2014. Puyehue Cordón-Caulle: Cambios en la fauna bentónica de arroyos de Patagonia post-erupción. *Ecología Austral* 24 (1), 64-74.
- Lampert, W., Sommer, U., 2007. *Limnoecology: the ecology of lakes and streams*. Oxford University Press, New York, 318 pp.

- Lapierre, J.F., Del Giorgio, P.A., 2014. Partial coupling and differential regulation of biologically and photochemically labile dissolved organic carbon across boreal aquatic networks. *Biogeosciences* 11(20), 5969-5985.
- Larsen, L.G., Aiken, G.R., Harvey, J.W., Noe, G.B., Crimaldi, J.P., 2010. Using fluorescence spectroscopy to trace seasonal DOM dynamics, disturbance effects, and hydrologic transport in the Florida Everglades. *Journal of Geophysical Research: Biogeosciences* 115, G03001.
- Larsen, S., Andersen, T. Hessen, D., 2011. Climate change predicted to cause severe increase of organic carbon in lakes. *Global Change Biology* 17, 1186-1192.
- Larson, J.H., Frost, P.C., Lodge, D.M., Lamberti, G.A., 2007. Photodegradation of dissolved organic matter in forested streams of the northern Great Lakes region. *Journal of the North American Benthological Society* 61, 35-425.
- Larson, J.H., Frost, P.C., Xenopoulos, M.A., Williams, C.J., Morales-Williams, A.M., Vallazza, J. M., et al., 2014. Relationships between land cover and dissolved organic matter change along the river to lake transition. *Ecosystems* 17(8), 1413-1425.
- Laudon, H., Berggren, M., Ågren, A., Buffam, I., Bishop, K., Grabs, T., et al., 2011. Patterns and dynamics of dissolved organic carbon (DOC) in boreal streams: the role of processes, connectivity, and scaling. *Ecosystems* 14(6), 880-893.
- Leavitt, P.R., Fritz, S.C., Anderson, N.J., Baker, P.A., Blenckner, T., Bunting, L., et al., 2009. Paleolimnological evidence of the effects on lakes of energy and mass transfer from climate and humans. *Limnology and Oceanography* 54(6parte2), 2330-2348.
- Lohse, K.A., Brooks, P.D., McIntosh, J.C., Meixner, T., Huxman, T.E., 2009. Interactions between biogeochemistry and hydrologic systems. *Annual Review of Environment and Resources* 34, 65-96.
- Lu, X.Q., Maie, N., Hanna, J.V., Childers, D., Jaffé, R., 2003. Molecular characterization of dissolved organic matter in freshwater wetlands of the Florida Everglades. *Water Research* 37, 2599-2606.
- Lu, Y., Bauer, J.E., Canuel, E.A., Yamashita, Y., Chambers, R.M., Jaffé, R., 2013. Photochemical and microbial alteration of dissolved organic matter in temperate headwater streams associated with different land use. *Journal of Geophysical Research* 118, 1-15.
- Madigan, M.T., Martinko, J.M., Dunlap, P.V., Clark, D.P., 2009. *Brock Biología de los microorganismos*. 12ª ed. Pearson Addison Wesley. Madrid, 1064 pp.

- Maie, N., Boyer, J.N., Yang, C., Jaffé, R., 2006. Spatial, geomorphological and seasonal variability of CDOM in estuaries of the Florida Coastal Everglades. *Hydrobiologia* 569, 135-150.
- Maie, N., Scully, N.M., Pisani, O., Jaffé, R., 2007. Composition of a protein-like fluorophore of dissolved organic matter in coastal wetland and estuarine ecosystems. *Water Research* 41, 563-570.
- Mann, P.J., Spencer, R.G., Dinga, B.J., Poulsen, J.R., Hernes, P. J., Fiske, G., et al., 2014. The biogeochemistry of carbon across a gradient of streams and rivers within the Congo Basin. *Journal of Geophysical Research: Biogeosciences* 119(4), 687-702.
- Marengo, J.A., Jones, R., Alves, L.M., Valverde, M.C., 2009. Future change of temperature and precipitation extremes in South America as derived from the PRECIS regional climate modeling system. *International Journal of Climatology* 29(15), 2241-2255.
- Mariluan, G. D., Villanueva, V. D., Albariño, R.J., 2015. Leaf litter breakdown and benthic invertebrate colonization affected by seasonal drought in headwater lotic systems of Andean Patagonia. *Hydrobiologia* 760 (1), 171-187.
- Marinone, M.C., Marque, S.M., Suárez, D.A., Diéguez, M.C., Pérez, P., Ríos, P., et al., 2006. UV radiation as a potential driving force for zooplankton community structure in Patagonian lakes. *Photochemistry and Photobiology* 82 (4), 962-971.
- Masiokas, M.H., Villalba, R., Luckman, B.H., Lascano, M.E., Delgado, S., Stepanek, P., 2008. 20th-century glacier recession and regional hydroclimatic changes in northwestern Patagonia. *Global and Planetary Change* 60(1), 85-100.
- Massana, R., Gasol, J. M., Bjørnsen, P. K., Blackburn, N., Hagstrøm, Å., Hietanen, S., et al., 1997. Measurement of bacterial size via image analysis of epifluorescence preparations: description of an inexpensive system and solutions to some of the most common problems. *Scientia Marina* 61(3), 397-407.
- McCabe, D.J., 2010. Rivers and streams: Life in flowing water. *Nature Education Knowledge* 1(12), 4.
- McCallister, S.L., Bauer, J.E., Cherrier, J.E., Ducklow, H.W., 2004. Assessing sources and ages of organic matter supporting river and estuarine bacterial production: A multiple-isotope ($\Delta^{14}\text{C}$, $\delta^{13}\text{C}$, and $\delta^{15}\text{N}$) approach. *Limnology and Oceanography* 49, 1687-1702.
- McClain, M.E., Boyer, E.W., Dent, C.L., Gergel, S.E., Grimm, N.B., Groffman, P.M., et al., 2003. Biogeochemical hot spots and hot moments at the interface of terrestrial and aquatic ecosystems. *Ecosystems* 6(4), 301-312.

- McElmurry, S.P., Long, D.T., Voice, T.C., 2013. Stormwater dissolved organic matter: Influence of land cover and environmental factors. *Environmental Science & Technology* 48(1), 45-53.
- McKnight, D.M., Thorn, K.A., Wershaw, R.L., Bracewell, J.M., Robertson, G.W., 1988. Rapid changes in dissolved humic substances in Spirit Lake and South Fork Castle Lake, Washington. *Limnology and Oceanography* 33(6parte2), 1527-1541.
- McKnight, D.M., Boyer, E.W., Westerhoff, P.K., Doran, P.T., Kulbe, T.K., Andersen, D.T., 2001. Spectrofluorometric characterization of dissolved organic matter for indication of precursor organic material and aromaticity. *Limnology and Oceanography* 46, 38-48.
- McKnight, D.M., Hood, E., Klapper, L., 2003. Trace organic moieties of dissolved organic material in natural waters. En: *Aquatic Ecosystems: Interactivity of Dissolved Organic Matter*. Findlay, S.E.G., Sinsabaugh, R.L. (Eds). Academic Press, San Diego, 71-96.
- McLaughlin, C., 2012. The impact of terrestrial dissolved organic carbon on stream ecosystems through an investigation of hydrologic sources. Doctoral dissertation, Stroud Water Research Center, 214 pp.
- Meng, F., Huang, G., Yang, X., Li, Z., Li, J., Cao, J., et al., 2013. Identifying the sources and fate of anthropogenically impacted dissolved organic matter (DOM) in urbanized rivers. *Water research* 47(14), 5027-5039.
- Mengistu, S.G., Quick, C.G., Creed, I.F., 2013. Nutrient export from catchments on forested landscapes reveals complex non stationary and stationary climate signals. *Water Resources Research* 49, 3863-3880.
- Mitchell, B.G., Kahru, M., Wieland, J., Stramska, M., 2002. Determination of spectral absorption coefficients of particles, dissolved material and phytoplankton for discrete water samples. *Ocean optics protocols for satellite ocean color sensor validation*, Revision 3, 231-257.
- Mladenov, N., Sommaruga, R., Morales-Baquero, R., Laurion, I., Camarero, L., Diéguez, M.C., et al., 2011. Dust inputs and bacteria influence dissolved organic matter in clear alpine lakes. *Nature Communications* 2, 405.
- Mladenov, N., Williams, M.W., Schmidt, S.K., Cawley, K., 2012. Atmospheric deposition as a source of carbon and nutrients to barren, alpine soils of the Colorado Rocky Mountains. *Biogeosciences Discussions* 9(3), 2375.
- Modenutti, B.E., Balseiro, E.G., Queimaliños, C.P., Añon Suárez, D.A., Diéguez, M.C., Albariño, R.J., 1998. Structure and dynamics of food webs in Andean lakes. *Lakes & Reservoirs: Research and Management* 3, 179-186.

- Modenutti, B.E., Balseiro, E.G., 2002. Mixotrophic ciliates in an Andean lake: dependence on light and prey of an *Ophrydium naumanni* population. *Freshwater Biology* 47(1), 121-128.
- Modenutti, B.E., Balseiro, E.G., Callieri, C., Bertoni, R., 2008. Light versus food supply as factors modulating niche partitioning in two pelagic mixotrophic ciliates. *Limnology and Oceanography* 53(2), 446-455.
- Modenutti, B.E., Albariño, R., Bastidas Navarro, M., Díaz Villanueva, V., Souza, M.S., Trochine, C., et al., 2010. Structure and dynamic of food webs in Andean North Patagonian freshwater systems: organic matter, light and nutrient relationships. *Ecología Austral* 20, 89-221.
- Modenutti, B.E., Balseiro, E.G., Elser, J.J., Bastidas Navarro, M., Cuassolo, F., Laspoumaderes, C., et al., 2013. Effect of volcanic eruption on nutrients, light and phytoplankton in oligotrophic lakes. *Limnology and Oceanography* 58, 1165-1175.
- Mopper, K., Feng, Z., Bentjen, S.B., Chen, R.F., 1996. Effects of cross-flow filtration on the absorption and fluorescence properties of seawater. *Marine Chemistry* 55(1), 53-74.
- Mopper, K., Kieber, D.J., Stubbins, A., 2015. Marine Photochemistry of Organic Matter: Processes and Impacts. En: *Biogeochemistry of Marine Dissolved Organic Matter*. Hanssel, D., Carlson, C. (Eds.). Academic Press, 390-449.
- Moran, M.A., Sheldon, W.M., Zepp, R.G., 2000. Carbon loss and optical property changes during long-term photochemical and biological degradation of estuarine dissolved organic matter. *Limnology and Oceanography* 45(6), 1254-1264.
- Moran, M.A., Covert, J.S., 2003. Photochemically mediated linkages between dissolved organic matter and bacterioplankton. En: *Aquatic Ecosystems: Interactivity of Dissolved Organic Matter*. Findlay, S.E.G., Sinsabaugh, R.L. (Eds.). Academic Press, San Diego, 243-262.
- Morris, D.P., Zagarese, H., Williamson, C.E., Balseiro, E.G., Hargreaves, B.R., Modenutti, B., et al., 1995. The attenuation of solar UV radiation in lakes and the role of dissolved organic carbon. *Limnology and Oceanography* 40, 1381-1391.
- Moss, R.H., Edmonds, J.A., Hibbard, K.A., Manning, M.R., Rose, S.K., Van Vuuren, D.P., et al., 2010. The next generation of scenarios for climate change research and assessment. *Nature* 463(7282), 747-756.
- Mostofa, K.M.G., Liu, C.Q., Yoshioka, T., Vione, D., Zhang, Y., Sakugawa, H., 2013. Fluorescent dissolved organic matter in natural waters. En: *Photobiogeochemistry of*

- Organic Matter. Mostofa, K.M.G., Yoshioka, T., Mottaleb, M.A., Vione, D. (Eds.). Springer, Berlin, 429-559.
- Mundo, I.A., Wiegand, T., Kanagaraj, R., Kitzberger, T., 2013. Environmental drivers and spatial dependency in wildfire ignition patterns of northwestern Patagonia. *Journal of Environmental Management* 123, 77-87.
- Murphy, K.R., Butler, K., Spencer, R.M., Stedmon, C.A., Boehme, J., Aiken, G.R., 2010. Measurement of dissolved organic matter fluorescence in aquatic environments: An interlaboratory comparison. *Environmental Science & Technology* 44, 9405-9412.
- Murphy, K.R., Stedmon, C.A., Graeber, D., Bro, R., 2013. Fluorescence spectroscopy and multi-way techniques. *PARAFAC. Analytical Methods* 5(23), 6557-6566.
- Murphy, K.R., Stedmon, C.A., Wenig, P., Bro, R., 2014. OpenFluor - an online spectral library of auto-fluorescence by organic compounds in the environment. *Analytical Methods* 6(3), 658-661.
- Nilsson, M., Sagerfors, J., Buffam, I., Laudon, H., Eriksson, T., Grelle, A., et al., 2008. Contemporary carbon accumulation in a boreal oligotrophic minerogenic mire – a significant sink after accounting for all C-fluxes. *Global Change Biology* 14, 2317-2332.
- Nordén, B., Berg, B., 1990. A non-destructive method (solid state ¹³C NMR) for determining organic chemical components of decomposing litter. *Soil Biology and Biochemistry* 22(2), 271-275.
- Norland, S., 1993. The relationship between biomass and volume of bacteria. *Handbook of methods in aquatic microbial ecology*. Lewis, 303-307.
- Nusch, E., 1980. Comparison on different methods for chlorophyll and phaeopigment determination. *Archiv für Hydrobiologie–Beiheft Ergebnisse der Limnologie* 14, 14-36.
- Ogawa, H., Amagai, Y., Koike, I., Kaiser, K., Benner, R., 2001. Production of refractory dissolved organic matter by bacteria. *Science* 292, 917-920
- Ohno, T., 2002. Fluorescence inner-filtering correction for determining the humification index of dissolved organic matter. *Environmental Science & Technology* 36, 742-746.
- Osburn, C.L., Zagarese, H.E., Morris, D.P., Hargreaves, B.R., Cravero, W., 2001. Calculation of spectral weighting functions for the solar photobleaching of chromophoric dissolved organic matter in temperate lakes. *Limnology and Oceanography* 46(6), 1455-1467.

- Osburn, C.L., Stedmon, C.A., 2011. Linking the chemical and optical properties of dissolved organic matter in the Baltic–North Sea transition zone to differentiate three allochthonous inputs. *Marine Chemistry* 126(1), 281-294.
- Osburn, C.L., Wigdahl, C.R., Fritz, S.C., Saros, J.E., 2011. Dissolved organic matter composition and photoreactivity in prairie lakes of the US Great Plains. *Limnology and Oceanography* 56(6), 2371-2390.
- Osburn, C.L., Handsel, L.T., Mikan, M.P., Paerl, H.W., Montgomery, M.T., 2012. Fluorescence tracking of dissolved and particulate organic matter quality in a river-dominated estuary. *Environmental Science & Technology* 46(16), 8628-8636.
- Pace, M.L., Carpenter, S.R., Cole, J.J., Coloso, J.J., Kitchell, J.F., Hodgson, J.R., et al., 2007. Does terrestrial organic carbon subsidize the planktonic food web in a clear-water lake? *Limnology and Oceanography* 52(5), 2177-2189.
- Pace, M.L., Cole, J.J., Carpenter, S.R., Kitchell, J.F., Hodgson, J.R., Van de Bogert, M.C., et al., 2004. Whole-lake carbon-13 additions reveal terrestrial support of aquatic food webs. *Nature* 427(6971), 240-243.
- Pacific, V., Jencso, K., McGlynn, B.L., 2010. Variable flushing mechanisms and landscape structure control stream DOC export during snowmelt in a set of nested catchments. *Biogeochemistry* 99, 193-211.
- Parlanti, E., Wörz, K., Geoffroy, L., Lamotte, M., 2000. Dissolved organic matter fluorescence spectroscopy as a tool to estimate biological activity in a coastal zone submitted to anthropogenic inputs. *Organic Geochemistry* 31 (12), 1765-1781.
- Paruelo, J.M., Jobágyi, E.G., Sala, O.E. 1998a. Biozones of Patagonia (Argentina). *Ecología Austral* 8, 145-153.
- Paruelo, J.M., Beltrán, A., Jobágyi, E., Sala, O.E., Golluscio, R.A., 1998b. The climate of Patagonia: general patterns and controls on biotic processes. *Ecología Austral* 8, 85-101.
- Pedrozo, F., Chillrud, S., Temporetti, P., Díaz, M., 1993. Chemical composition and nutrient limitation in rivers and lakes of northern Patagonian Andes (39.5°–42° S; 71°W) (Rep. Argentina). *Verhandlungen des Internationalen Verein Limnologie* 25, 205-214.
- Pérez, A.P., Ferraro, M.A., Zagarese, H.E., 2012. The relative contributions of diet and Associated microbiota to the accumulation of UV-absorbing mycosporine-like amino acids in the freshwater copepod *Boeckella antiqua*. *Freshwater Biology* 57, 993-1004.

- Pérez, A.P., Díaz, M.M., Ferraro, M.A., Cusminsky, G.C., Zagarese, H.E., 2003. Replicated mesocosm study on the role of natural ultraviolet radiation in high CDOM, shallow lakes. *Photochemical and Photobiological Sciences* 2, 118-123.
- Pérez, G.L., Queimaliños, C.P., Modenutti, B. E. 2002. Light climate at the deep chlorophyll maxima in North Patagonian Andean Lakes (Argentina). *Journal of Plankton Research* 24, 591-599.
- Pérez, G.L., Queimaliños, C., Balseiro, E.G., Modenutti, B., 2007. Phytoplankton absorption spectra along the water column in deep North Patagonian Andean lakes (Argentina). *Limnologica* 37, 3-16.
- Pérez, G.L., Torremorell, A., Bustingorry, J., Escaray, R., Pérez, P., Diéguez, M., et al., 2010. Optical characteristics of shallow lakes from the Pampa and Patagonia regions of Argentina. *Limnologica-Ecology and Management of Inland Waters* 40(1), 30-39.
- Pérez, G.L., Lagomarsino, L., Zagarese, H.E., 2013. Optical properties of highly turbid shallow lakes with contrasting turbidity origins: The ecological and water management implications. *Journal of Environmental Management* 130, 207-220.
- Peuravuori, J., Koivikko, R., Pihlaja, K., 2002. Characterization, differentiation and classification of aquatic humic matter separated with different sorbents: synchronous scanning fluorescence spectroscopy. *Water Research* 36(18), 4552-4562.
- Poff, N.L., Zimmerman, J.K., 2010. Ecological responses to altered flow regimes: a literature review to inform the science and management of environmental flows. *Freshwater Biology* 55(1), 194-205.
- Polis, G.A., Anderson, W.B., Holt, R.D., 1997. Toward an integration of landscape and food web ecology: the dynamics of spatially subsidized food webs. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 289-316.
- Poole, G.C., 2010. Stream hydrogeomorphology as a physical science basis for advances in stream ecology. *Journal of the North American Benthological Society* 29(1), 12-25.
- Porter, K.G., Feig, Y.S., 1980. The use of DAPI for identifying and counting aquatic microfloral. *Limnology and Oceanography* 25(5), 943-948.
- Poulin, B.A., Ryan, J.N., Aiken, G.R., 2014. Effects of iron on optical properties of dissolved organic matter. *Environmental Science & Technology* 48(17), 10098-10106.
- Preston, M.D., Eimers, M.C., Watmough, S.A., 2011. Effect of moisture and temperature variation on DOC release from a peatland: conflicting results from Laboratory, field and historical data analysis. *Science of the Total Environment* 409, 1235-1242.

- Queimaliños, C.P., Modenutti, B.E., Balseiro, E.G., 1999. Symbiotic association of the ciliate *Ophrydium naumanni* with *Chlorella* causing a deep chlorophyll a maximum in an oligotrophic South Andes lake. *Journal of Plankton Research* 21(1), 167-178.
- Queimaliños, C., Reissig, R., Diéguez, M.C., Arcagni, M., Ribeiro Guevara, S., Campbell, L., et al., 2012. Influence of precipitation, landscape and hydrogeomorphic lake features on pelagic allochthonous indicators in two connected ultraoligotrophic lakes of North Patagonia. *Science of the Total Environment* 427-428, 219-228.
- Quirós, R., Drago, E., 1999. The environmental state of Argentinean lakes: an overview. *Lakes & Reservoirs: Research and Management* 4(1), 55-64.
- Ravichandran, M. 2004. Interactions between mercury and dissolved organic matter— a review. *Chemosphere* 55(3), 319-331.
- Raymond, P. A., Bauer, J.E., 2001. Riverine export of aged terrestrial organic matter to the North Atlantic Ocean. *Nature* 409(6819), 497-500.
- Raymond, P.A., Saiers, J.E., 2010. Event controlled DOC export from forested watersheds. *Biogeochemistry* 100(1-3), 197-209.
- Raymond, P.A., Hartmann, J., Lauerwald, R., Sobek, S., McDonald, C., Hoover, M., et al., 2013. Global carbon dioxide emissions from inland waters. *Nature* 503(7476), 355-359.
- Reche, I., Pace, M.L., Cole, J.J., 1999. Relationship of trophic and chemical conditions to photobleaching of dissolved organic matter in lake ecosystems. *Biogeochemistry* 44(3), 259-280.
- Reche, I., Pace, M.L., Cole, J.J., 2000. Modeled effects of dissolved organic carbon and solar spectra on photobleaching in lake ecosystems. *Ecosystems* 3(5), 419-432.
- Reche, I., Pace, M.L., 2002. Linking dynamics of dissolved organic carbon in a forested lake with environmental factors. *Biogeochemistry* 61(1), 21-36.
- Reche, I., 2003. Sensibilidad de los ecosistemas acuáticos a la radiación ultravioleta: el papel de la materia orgánica disuelta. *Ecosistemas* 2003/1, 1-11.
- Rochelle-Newall, E.J., Fisher, T.R., 2002. Chromophoric dissolved organic matter and dissolved organic carbon in Chesapeake Bay. *Marine Chemistry* 77(1), 23-41.
- Romera-Castillo, C., 2011. Optical properties of the dissolved organic matter as tracers of microbiological and geochemical processes in marine ecosystems. Tesis doctoral, Universidad Politécnica de Catalunya, España, 192 pp.
- Sadro, S., Melack, J., 2012. The effect of an extreme rain event on the biogeochemistry and ecosystem metabolism of an oligotrophic high-elevation lake. *Arctic Antarctic and Alpine Research* 44, 222-231.

- Sanderman, J., Lohse, K.A., Baldock, J.A., Amundson, R., 2009. Linking soils and streams: sources and chemistry of dissolved organic matter in a small coastal watershed. *Water Resources Research* 45(3).
- Schelker, J., Öhman, K., Löfgren, S., Laudon, H., 2014. Scaling of increased dissolved organic carbon inputs by forest clear-cutting – What arrives downstream?. *Journal of Hydrology* 508, 299-306.
- Shutova, Y., Baker, A., Bridgeman, J., Henderson, R.K., 2014. Spectroscopic characterization of dissolved organic matter changes in drinking water treatment: from PARAFAC analysis to online monitoring wavelengths. *Water Research* 54, 159-169.
- Sobczak, W.V., Raymond, P.A., 2015. Watershed hydrology and dissolved organic matter export across time scales: minute to millennium. *Freshwater Science* 34(1), 392-398.
- Soto Cárdenas, C., Diéguez, M.C., Riveiro Guevara, S., Marvin-DiPasquale, M., Queimaliños, C.P., 2014. Incorporation of inorganic mercury (Hg^{2+}) in pelagic food webs of ultraoligotrophic and oligotrophic lakes: The role of different plankton size fractions and species assemblages. *Science of the Total Environment* 494, 65-73.
- Spencer, R.G.M., Aiken, G.R., Wickland, K.P., Striegl, R.G., Hernes, P.J., 2008. Seasonal and spatial variability in dissolved organic matter quantity and composition from the Yukon River basin, Alaska. *Global Biogeochemical Cycles* 22, GB4002.
- Spencer, R.G.M., Aiken, G.R., Butler, K.D., Dornblaser, M.M., Striegl, R.G., Hernes, P.J., 2009. Utilizing chromophoric dissolved organic matter measurements to derive export and reactivity of dissolved organic carbon to the Arctic Ocean: a case study of the Yukon River, Alaska. *Geophysical Research Letters* 36, L06401.
- Spencer, R.G.M., Hernes, P. J., Ruf, R., Baker, A., Dyda, R.Y., Stubbins, A., et al., 2010. Temporal controls on dissolved organic matter and lignin biogeochemistry in a pristine tropical river, Democratic Republic of Congo. *Journal of Geophysical Research* 115, G03013.
- Spencer, R.G.M., Butler, K.D., Aiken, G.R., 2012. Dissolved organic matter and chromophoric dissolved organic matter properties of rivers in the U.S.A. *Journal of Geophysical Research: Biogeosciences* 117, G03001.
- Stackpole, S.M., Stets, E.G., Striegl, R.G., 2014. The impact of climate and reservoirs on longitudinal riverine carbon fluxes from two major watersheds in the Central and Intermontane West. *Journal of Geophysical Research: Biogeosciences* 119(5), 848-863.

- Stedmon, C.A., Markager, S., Bro, R., 2003. Tracing dissolved organic matter in aquatic environments using a new approach to fluorescence spectroscopy. *Marine Chemistry* 82(3), 239-254.
- Stedmon, C.A., Bro, R., 2008. Characterizing dissolved organic matter fluorescence with parallel factor analysis: A tutorial. *Limnology and Oceanography: Methods* 6, 572-579.
- Stedmon, C.A., Álvarez-Salgado, X.A., 2011. Shedding light on a black box: UV-visible spectroscopic characterization of marine dissolved organic matter. *Microbial Carbon Pump in the Ocean. Science AAA/S*, 62-63.
- Stedmon, C.A., Amon, R.M., Rinehart, A.J., Walker, S.A., 2011a. The supply and characteristics of colored dissolved organic matter (CDOM) in the Arctic Ocean: Pan Arctic trends and differences. *Marine Chemistry* 124, 108-118.
- Stedmon, C.A., Sereďyńska-Sobecka, B., Boe-Hansen, R., Le Tallec, N., Waul, C. K., Arvin, E., 2011b. A potential approach for monitoring drinking water quality from groundwater systems using organic matter fluorescence as an early warning for contamination events. *Water Research* 45(18), 6030-6038.
- Stedmon, C.A., Thomas, D.N., Papadimitriou, S., Granskog, M.A., Dieckmann, G.S., 2011c. Using fluorescence to characterize dissolved organic matter in Antarctic sea ice brines. *Journal of Geophysical Research: Biogeosciences*, 116, G03027.
- Steimberg, C., 2013. Ecology of humic substances in freshwaters: Determinants from geochemistry to ecological niches. Springer Science & Business Media, Berlin, 440 pp.
- Stephens, B.M., Minor, E.C., 2010. DOM characteristics along the continuum from river to receiving basin: a comparison of freshwater and saline transects. *Aquatic Sciences* 72, 403-417.
- Stets, E.G., Striegl, R.G., 2012. Carbon export by rivers draining the conterminous United States. *Inland Waters* 2, 177-184.
- Stevenson, F.J., 1982. Humic chemistry. Genesis, Composition and Reactions. Stevenson, F.J. (Eds.). Wiley, New York, 496 pp.
- Strahler, A.N., 1957. Quantitative analysis of watershed geomorphology. *Transactions of the American Geophysical Union* 38, 913-920.
- Sun, Y., Solomon, S., Dai, A., Portmann, R.W., 2007. How often will it rain? *Journal of Climate* 20, 4801-4818.
- Swanson, F.J., Jones, J.A., Crisafulli, C.M., Lara, A., 2013. Effects of volcanic and hydrologic processes on forest vegetation, Chaitén Volcano, Chile. *Andean Geology* 40(2), 359-391.

- Tanentzap, A.J., Szkokan-Emilson, E.J., Kielstra, B.W., Arts, M.T., Yan, N.D., Gunn, J. M., 2014. Forests fuel fish growth in freshwater deltas. *Nature Communications* 5, 4077.
- Temnerud, J., Seibert, J., Jansson, M., Bishop, K., 2007. Spatial variation in discharge and concentrations of organic carbon in a catchment network of boreal streams in northern Sweden. *Journal of Hydrology* 342(1), 72-87.
- ter Braak, C.J.F., Smilauer, P., 1998. CANOCO reference manual and User's guide to Canoco for windows: Software for canonical community ordination (version 4.5). Centre for Biometry, 500 pp.
- Teymuri, B., 2007. Fluorescence spectroscopy and parallel factor analysis of waters from municipal waste sources. Doctoral dissertation. Universidad de Missouri, Columbia, 94 pp.
- Thompson, G.L., 1991a. A note on the rank transform for interactions. *Biometrika* 78, 697-701.
- Thompson, G.L., 1991b. A unified approach to rank tests for multivariate and repeated measures designs. *Journal of the American Statistical Association* 86, 410-419.
- Tranvik, L.J., 1992. Allochthonous dissolved organic matter as an energy source for pelagic bacteria and the concept of the microbial loop. *Hydrobiologia* 229(1), 107-114.
- Tranvik, L.J., Bastviken, D., Bertilsson, S., 2000. Microbial degradability of freshwater DOM from different sources, and under different environmental conditions. En: Meeting of the American Society of Limnology and Oceanography, 15-04.
- Tranvik, L.J., Bertilsson, S., 2001. Contrasting effects of solar UV radiation on dissolved organic sources for bacterial growth. *Ecology Letters* 4, 458-463.
- Tranvik, L.J., Downing, J.A., Cotner, J.B., Loiselle, S.A., Striegl, R.G., Ballatore, T. J., et al., 2009. Lakes and reservoirs as regulators of carbon cycling and climate. *Limnology and Oceanography* 54(6parte2), 2298-2314.
- Uselman, S.M., Qualls, R.G., Liliensein, J., 2012. Quality of soluble organic C, N, and P produced by different types and species of litter: Root litter versus leaf litter. *Soil Biology and Biochemistry* 54, 57-67.
- Vähätalo, A.V., Wetzel, R.G., 2008. Long-term photochemical and microbial decomposition of wetland-derived dissolved organic matter with alteration of 13 C:12 C mass ratio. *Limnology and Oceanography* 53, 1387-1392.
- Van Gaelen, N., Verheyen, D., Ronchi, B., Struyf, E., Govers, G., Vanderborght, J., et al., 2014. Identifying the transport pathways of dissolved organic carbon in contrasting catchments. *Vadose Zone Journal* 13(7).

- van Verseveld, W.J., McDonnell, J.J., Lajtha, K., 2009. The role of hillslope hydrology in controlling nutrient loss. *Journal of Hydrology* 367(3), 177-187.
- van Vuuren, D.P., Edmonds, J., Kainuma, M., Riahi, K., Thomson, A., Hibbard, K., et al., 2011. The representative concentration pathways: an overview. *Climatic Change* 109, 5-31.
- Vannote, R.L., Minshall, G.W., Cummins, K.W., Sedell, J.R., Cushing, C.E., 1980. The river continuum concept. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 37(1), 130-137.
- Villalba, R., Lara, A., Boninsegna, J.A., Masiokas, M., Delgado, S., Aravena, J.C., et al., 2003. Large-scale temperature changes across the southern Andes: 20th-century variations in the context of the past 400 years. En: *Climate Variability and Change in High Elevation Regions: Past, Present & Future*. Springer Netherlands, 177-232.
- Villalba, R., Lara, A., Masiokas, M.H., Urrutia, R., Luckman, B.H., Marshall, G.J., et al., 2012. Unusual Southern Hemisphere tree growth patterns induced by changes in the Southern Annular Mode. *Nature Geoscience* 5(11), 793-798.
- Vodacek, A., Blough, N.V., DeGrandpre, M.D., Peltzer, E.T., Nelson, R.K., 1997. Seasonal variation of CDOM and DOC in the Middle Atlantic Bight: Terrestrial inputs and photooxidation. *Limnology and Oceanography* 42(4), 674-686.
- Walker, S.A., Amon, R.M., Stedmon, C.A., 2013. Variations in high-latitude riverine fluorescent dissolved organic matter: A comparison of large Arctic rivers. *Journal of Geophysical Research: Biogeosciences* 118(4), 1689-1702.
- Weishaar, J.L., Aiken, G.R., Bergamaschi, B.A., Fram, M.S., Fujii, R., Mopper, K., 2003. Evaluation of specific ultraviolet absorbance as an indicator of the chemical composition and reactivity of dissolved organic carbon. *Environmental Science & Technology* 37(20), 4702-4708.
- Wetzel, R.G., 1984. Detrital dissolved and particulate organic carbon functions in aquatic ecosystems. *Bulletin of Marine Science* 35(3), 503-509.
- Wetzel, R.G., Likens, G.E., 1991. *Limnological analysis*. Springer, New York, 388 pp.
- Wetzel, R.G., 2001. *Limnology: lake and river ecosystems*. Gulf Professional Publishing, 1006 pp.
- Williams, C.J., Yamashita, Y., Wilson, H.F., Jaffé, R., Xenopoulos, M.A., 2010. Unraveling the role of land use and microbial activity in shaping dissolved organic matter characteristics in stream ecosystems. *Limnology and Oceanography* 55, 1159-1171.

- Williamson, C.E., Dodds, W., Kratz, T.K., Palmer, M.A., 2008. Lakes and streams as sentinels of environmental change in terrestrial and atmospheric processes. *Frontiers in Ecology and the Environment* 6(5), 247-254.
- Williamson, C.E., Saros, J.E., Vincent, W.F., Smol, J.P., 2009. Lakes and reservoirs as sentinels, integrators, and regulators of climate change. *Limnology and Oceanography* 54(6), 2273.
- Williamson, C.E., Weathers, K.C., Knoll, L.B., Brentrup, J., 2012. Challenges and opportunities to developing synergies among diverse environmental observatories: FSML, NEON, and GLEON. En: AGU Fall Meeting Abstracts (1), 08.
- Williamson, C.E., Brentrup, J.A., Zhang, J., Renwick, W.H., Hargreaves, B.R., Knoll, L.B., et al., 2014. Lakes as sensors in the landscape: Optical metrics as scalable sentinel responses to climate change. *Limnology and Oceanography* 59, 840-850.
- Wilson, H.F., Xenopoulos, M.A., 2008. Ecosystem and seasonal control of stream dissolved organic carbon along a gradient of land use. *Ecosystems* 11(4), 555-568.
- Wilson, H.F., Xenopoulos, M.A., 2009. Effects of agricultural land use on the composition of fluvial dissolved organic matter. *Nature Geoscience* 2(1), 37-41.
- Wilson, H.F., Saiers, J.E., Raymond, P.A., Sobczak, W.V, 2013. Hydrologic drivers and seasonality of dissolved organic carbon concentration, nitrogen content, bioavailability, and export in a forested New England stream. *Ecosystems* 16, 604-616.
- Winterdahl, M., Futter, M., Köhler, S., Laudon, H., Seibert, J., Bishop, K., 2011. Riparian soil temperature modification of the relationship between flow and dissolved organic carbon concentration in a boreal stream. *Water Resources Research* 47(8).
- Witham, C.S., Oppenheimer, C., Horwell, C.J., 2005. Volcanic ash leachates: a review and recommendations for sampling methods. *Journal of Volcanology and Geothermal Research* 141, 299-326.
- Wong, J.C.Y., Williams, D.D., 2009. Sources and seasonal patterns of dissolved organic matter (DOM) in the hyporheic zone. *Hydrobiologia* 647(1), 99-111.
- Xu, N., Saiers, J.E. 2010. Temperature and hydrologic controls on dissolved organic matter mobilization and transport within a forest topsoil. *Environmental Science & Technology* 44, 5423-5429.
- Xu, N., Wilson, H., Saiers, J.E., 2010. Simulating streamflow and dissolved organic matter export from small forested watersheds. En: AGU Fall Meeting Abstracts (1), 1188.

- Xu, N., Saiers, J.E., Wilson, H.F., Raymond, P.A. 2012. Simulating streamflow and dissolved organic matter export from a forested watershed. *Water Resource Research* 48, W05519.
- Yamashita, Y., Scinto, L.J., Maie, N., Jaffe, R., 2010. Dissolved organic matter characteristics across a subtropical wetland's landscape: Application of optical properties in the assessment of environmental dynamics. *Ecosystems* 13, 1006-1019.
- Yamashita, Y., Kloeppel, B.D., Knoepp, J., Zausen, G.L., Jaffe, R., 2011. Effects of watershed history on dissolved organic matter characteristics in headwater streams. *Ecosystems* 14, 1110-1122.
- Yang, S.S., Guo, W.Q., Meng, Z.H., Zhou, X.J., Feng, X.C., Zheng, H.S., et al., 2013. Characterizing the fluorescent products of waste activated sludge in dissolved organic matter following ultrasound assisted ozone pretreatments. *Bioresource Technology* 131, 560-563.
- Young, K.C., Docherty, K.M., Maurice, P.A., Bridgham, S.D., 2005. Degradation of surface-water dissolved organic matter: Influences of DOM chemical characteristics and microbial populations. *Hydrobiologia* 539, 1-11.
- Zagarese, H. E., Tartarotti, B., Cravero, W., Gonzalez, P., 1998. UV damage in shallow lakes: the implications of water mixing. *Journal of Plankton Research* 20(8), 1423-1433.
- Zagarese, H.E., Diaz M., Pedrozo, F., Ubeda, C., 2000. Mountain Lakes in northwestern Patagonia. *Verhandlungen des Internationalen Verein Limnologie* 27, 533-538.
- Zagarese, H.E., Diaz, M., Pedrozo, F., Ferraro, M., Cravero, W., Tartarotti, B., 2001. Photodegradation of natural organic matter exposed to fluctuating levels of solar radiation. *Journal of Photochemistry and Photobiology* 61(1-2), 35-45.
- Zar, J.H., 1999. *Biostatistical Analysis*. Pearson Education, India, 663 pp.
- Zhang, Y., Liu, M., Qin, B., Feng, S., 2009. Photochemical degradation of chromophoric-dissolved organic matter exposed to simulated UV-B and natural solar radiation. *Hydrobiologia* 627(1), 159-168.

TRABAJO DE RESPALDO

Los resultados de esta tesis fueron parcialmente publicados en los siguientes trabajos:

PUBLICACIONES

GARCÍA R.D., Reissig M., Queimaliños Q.P., García P.E. y Dieguez M.C. 2015. Climate-driven terrestrial inputs in ultraoligotrophic mountain streams of Andean Patagonia revealed through chromophoric and fluorescent dissolved organic matter. *Science of the Total Environment* 521-522, 280-292. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2015.03.102. (*Trabajo de respaldo*)

CONGRESOS

GARCÍA R.D., Reissig M., García P. y Diéguez M. 2014. Caracterización de materia orgánica disuelta (MOD) en arroyos de montaña nordpatagónicos. VI Congreso Argentino de Limnología. La Plata (Argentina), 14-18 septiembre 2014.

GARCÍA R.D., Reissig M. y Diéguez M. 2012. Efecto de las precipitaciones estacionales sobre la materia orgánica disuelta en arroyos patagónicos. V Congreso Argentino de Limnología. Santa Fe (Argentina), 28 noviembre-01 diciembre 2012.



Climate-driven terrestrial inputs in ultraoligotrophic mountain streams of Andean Patagonia revealed through chromophoric and fluorescent dissolved organic matter



Roberto D. Garcia ^{*}, Mariana Reissig, Claudia P. Queimaliños, Patricia E. Garcia, Maria C. Dieguez

Laboratorio de Fotobiología, INIBIOMA (UNComahue-CONICET), Quintral 1250, R8400FRF, S. C de Bariloche, Río Negro, Argentina

HIGHLIGHTS

- Allochthonous inputs in Patagonian streams were surveyed for 30 months.
- Particulate materials, dissolved organic carbon and nutrients increased with runoff.
- Allochthonous carbon contributed through runoff dominates the streams' DOM
- DOM analyses converge to point out to the catchment carbon contribution.
- DOM quality reflects different breakdown stages of allochthonous DOM.

ARTICLE INFO

Article history:

Received 6 January 2015

Received in revised form 21 March 2015

Accepted 23 March 2015

Available online xxxx

Editor: F. Riget

Keywords:

Forested catchment

Andean streams

Allochthonous subsidy

Volcanic event

Precipitation

Dissolved organic matter

Nutrients

Patagonia

ABSTRACT

Fluvial networks transport a substantial fraction of the terrestrial production, contributing to the global carbon cycle and being shaped by hydrologic, natural and anthropogenic factors. In this investigation, four Andean Patagonian oligotrophic streams connecting a forested catchment (~125 km²) and draining to a double-basin large and deep lake (Lake Moreno complex, Northwestern Patagonia), were surveyed to analyze the dynamics of the allochthonous subsidy. The results of a 30 month survey showed that the catchment supplies nutrients and dissolved organic matter (DOM) to the streams. The eruption of the Puyehue–Cordón Caulle at the beginning of the study overlapped with seasonal precipitation events. The largest terrestrial input was timed with precipitation which increased particulate materials, nutrients and DOM through enhanced runoff. Baseline suspended solids and nutrients were very low in all the streams (suspended solids: ~1 mg/L; total nitrogen: ~0.02 mg/L; total phosphorus: ~5 µg/L), increasing several fold with runoff. Baseline dissolved organic carbon concentrations (DOC) ranged between 0.15 and 1 mg/L peaking up to three-fold. Chromophoric and fluorescent analyses characterized the DOM as of large molecular weight and high aromaticity. Parallel factor modeling (PARAFAC) of DOM fluorescence matrices revealed three components of terrestrial origin, with certain degree of microbial processing: C1 and C2 (terrestrial humic-like compounds) and C3 (protein-like and pigment derived compounds). Seasonal changes in MOD quality represent different breakdown stages of the allochthonous DOM. Our survey allowed us to record and discuss the effects of the Puyehue–Cordón Caulle eruption, showing that due to the high slopes, high current and discharge of the streams the volcanic material was rapidly exported to the Moreno Lake complex. Overall, this survey underscores the magnitude and timing of the allochthonous input revealing the terrestrial subsidy to food webs in Patagonian freshwaters, which are among the most oligotrophic systems of the world.

© 2015 Elsevier B.V. All rights reserved.

1. Introduction

A considerable fraction of the primary production of the terrestrial environment is transported by fluvial networks contributing significantly to the global carbon cycle (Battin et al., 2009; Fasching et al.,

2014). The delivery of terrestrial dissolved organic matter (DOM) into inland water is driven by several natural (i.e. climate, landscape, etc.) and anthropogenic (i.e. land use) factors, and is controlled by hydrologic processes (Ågren et al., 2008; Laudon et al., 2011; McElmurry et al., 2013). As a consequence of global climate change and human impact on natural landscapes, the flux of terrestrial DOM into inland waters is rising, causing the browning of freshwater networks in some regions of the world (Fasching et al., 2014). The terrestrial DOM subsidy has

^{*} Corresponding author.

E-mail address: garciarobertodaniel@gmail.com (R.D. Garcia).

an important role in catchment carbon budgets influencing the biogeochemistry and ecology of surface waters (Cole et al., 2007; Nilsson et al., 2008). The inputs of allochthonous colored organic matter (CDOM) into the watersheds are tied to climate variables and may influence environmental aspects such as light penetration, primary production, and microbial communities, with far reaching effects in aquatic food webs (Jansson et al., 2007; Jaffé et al., 2008; Mladenov et al., 2011; Fasching et al., 2014).

DOM is composed of different organic substances with particular reactivities and ecological functions (Jaffé et al., 2008). In particular, dissolved organic carbon (DOC) exerts control on the acid–base chemistry of soils and surface waters (Hruška et al., 2003) and affects metal export and speciation (Ravichandran, 2004; Aiken, 2014). The properties of DOM are diverse and depend on its source and diagenetic state (Benner, 2003). DOM quantity and quality are in turn controlled by a variety of processes, biological (e.g. primary production and decomposition), chemical (e.g. photodegradation and redox reactions) and physical (e.g. hydrology) (McKnight et al., 2001; Findlay and Sinsabaugh, 2003; Jaffé et al., 2008; Fellman et al., 2009; Spencer et al., 2009). Qualitative assessments of bulk DOM include molecular weight, aromaticity, optical properties, elemental composition and proportion of humic substances (Hessen and Tranvik, 1998; Helms et al., 2008; Ishii and Boyer, 2012). Thus, monitoring the DOM dynamics provides substantial information about ecosystemic linkages and functioning over space and time (Larsen et al., 2010; Laudon et al., 2011; McElmurry et al., 2013; Fasching et al., 2014).

In running water, DOM is greatly influenced by the characteristics and processes of the watershed, particularly the regional climate (rainfall and temperature), the vegetation, the permafrost and wetland coverage as well as the channel slope and the discharge (Jaffé et al., 2008; Laudon et al., 2011; McElmurry et al., 2013; Fasching et al., 2014). In particular, in headwater catchments stream DOM is derived primarily from allochthonous sources such as ground and/or soil water, riparian zones and overland flow (Brooks et al., 1999; Hood et al., 2005). The majority of the annual DOC flux from the catchment to the fluvial network is contributed by the runoff (Boyer et al., 1997; Baker et al., 2000; Finlay et al., 2006).

The headwaters of the Atlantic and Pacific basins extending on both sides of the Andes in Northern Patagonia are born above the treeline in the high cordillera, draining mountain lakes and/or receiving directly transient streams originated in the snowpack. These systems cross barren or poorly developed soils above the timberline and areas lower in the catchment which are covered by endemic *Nothofagus* forests (Paruelo et al., 1998a) to finally reach large and deep piedmont lakes (Queimaliños et al., 2012; García et al., 2015). Andean Patagonian catchments comprise some of the most unproductive freshwater systems of the world including mountain lakes and streams. Piedmont lakes and large rivers are characterized by limiting nutrient levels (Pedrozo et al., 1993), extremely low DOC concentrations (<1 mg/L) and challenging underwater UV levels (Morris et al., 1995). These factors act concomitantly as strong driving forces for ecosystemic processes (Marinone et al., 2006; Mladenov et al., 2011; Queimaliños et al., 2012). For example, the harsh underwater light climate of Andean Patagonian freshwaters boosts photochemical reactions, thus influencing biogeochemical processes and certainly inhibiting the occurrence and production of aquatic organisms (Pérez et al., 2002, 2007; Marinone et al., 2006).

The analysis of DOM in Andean Patagonian freshwater ecosystems has focused on estimating directly or indirectly the DOC concentrations and its influence on underwater light climate of lakes (Morris et al., 1995; Pérez et al., 2002, 2007, 2013). Mountain aquatic systems of Patagonia are apparently not affected by atmospheric inputs of nutrients and DOM (Mladenov et al., 2011), being the forested catchment the main source of allochthonous particulate carbon (Albariño and Díaz Villanueva, 2006) and the precipitation and runoff the vehicle to the fluvial network (Albariño et al., 2009; Queimaliños et al., 2012).

Forecasts for this region include shifts in precipitation and rising temperatures (Masiokas et al., 2008; Villalba et al., 2012), variables affecting the magnitude and timing of the allochthonous contribution to local aquatic systems (Bastidas Navarro and Modenutti, 2012; Queimaliños et al., 2012). In addition, the increasing levels of UV radiation in the region are expected to enhance the photochemical reactions leading to changes in the availability and reactivity of DOM, and probably cascading into other trophic compartments in aquatic systems (Häder et al., 2007, 2011).

The dynamics of Andean catchments is shaped by the frequent disturbances generated by volcanism affecting at a regional scale along with mass movements, avalanches and fires acting at local and micro-scale (Daniels and Veblen, 2003; Daga et al., 2008, 2014). Nahuel Huapi National Park (NHNP, North Patagonia, Argentina) is located in the Southern Volcanic Zone (SVZ) of the Andes, under the influence of several active volcanoes, with high eruption frequency recorded in historical descriptions since the 18th century (Daga et al., 2008). Three main volcanic sources have been determined in sediment cores of different lakes of the NHNP, Puyehue–Cordón Caulle complex (PCC) and the volcanoes Chaitén and Calbuco. On 4th June 2011 the volcanic complex PCC (40°30'S, 72°12'W; 2236 m a.s.l.) erupted, expelling a column (height: 11–15 km, width: 5 km) of pumice, ash and gases to the atmosphere lasting until March 2012 (Daga et al., 2014). The eruption dispersed volcanic products to the southeast impacting NHNP as well as the Patagonian steppe, reached the Atlantic Ocean in one day, circling the globe few days later (Cardona et al., 2012; Klüser et al., 2013). The eruption of the PCC deposited around 950 million tons of ash on Argentine Patagonia, creating a layer of volcanic material of varying thickness and particle size, depending on the distance from the source (Chaneton et al., 2014). Volcanism in Patagonia is known to determine regionally soil properties (Diehl et al., 2003), and to affect terrestrial and aquatic biota inducing changes at community level and causing the disruption of ecological interactions (Modenutti et al., 2013; Chaneton et al., 2014; Elser et al., 2015). In streams close to PCC, the pumice and ash cumulated on the riparian vegetation and streambeds, changing water quality parameters and communities, while in lakes of the area there was an increase in total suspended solids, light extinction, phosphorus concentration and phytoplankton biomass (Modenutti et al., 2013; Balseiro et al., 2014).

This investigation aims to analyze the magnitude, quality and the timing of the allochthonous subsidy in four streams that drain a pristine forested catchment in Northwestern Patagonia. In particular, we focused on the temporal dynamics and the hydrological and biochemical controls of DOM in four Andean streams (Casa de Piedra, Goye, López and De la Virgen), draining a forested catchment of ~125 km² towards the double-basin, deep, ultraoligotrophic Lake Moreno (NHNP, Patagonia, Argentina). For this purpose, we sampled the four streams for 30 months, recorded the discharge and physico-chemical parameters, and performed laboratory analyses to determine allochthonous inputs of DOM and nutrients. We applied absorbance and fluorescence spectroscopy to analyze the chromophoric and fluorescent dissolved organic matter fractions (CDOM and FDOM, respectively) in order to characterize DOM quality across a spatial–temporal scale.

Our investigation started a few weeks before the eruption of the Puyehue–Cordón Caulle and therefore our survey allowed us to record and discuss the effects of this stochastic event. The study area received pumice and ash that deposited on the vegetation and soils, being rapidly transported to the streams and lakes after heavy rainfall events.

Our main hypothesis is that DOM and nutrients in the streams are enhanced substantially by runoff during precipitation events. The terrestrial DOM input is received by pulses into the streams and is determined by the frequency and intensity of precipitation. In this context, the main input expected will be delivered during the austral autumn–winter period when the maximum rainfall is recorded in northwestern Patagonia (Paruelo et al., 1998b). We hypothesize also that given the homogeneity of the streams' subcatchments, which

have similar vegetation cover and structure, the four systems will have similar DOM dynamics, in terms of concentration and quality. Regarding the impact of the volcanic eruption in the streams, we do not expect dramatic changes as observed in streams close to the PCC. However, we hypothesize that some parameters such as total suspended solids, nutrient concentration, and the amount and quality of DOM may reflect the deposition and transport of volcanic material.

2. Material and methods

2.1. Study sites

This study was conducted in four mountain streams, Casa de Piedra, De la Virgen, Goye and López (Fig. 1), located in the Glacial Lake district of the Southern Andes (Iriondo, 1989), inside the Nahuel Huapi National Park (Patagonia, Argentina). The streams belong to the catchment of the Lake Moreno complex, a double basin ultraoligotrophic system (41° 04'S, 71° 31'W) that flows into Lake Nahuel Huapi. López stream flows into Lake Moreno West while Casa de Piedra, De la Virgen and Goye flow into Lake Moreno East (Fig. 1). The four streams drain mountain areas covered by a deciduous forest of *Nothofagus pumilio* and piedmont areas with the evergreen trees *Nothofagus dombeyi* and *Austrocedrus chilensis* (Bessera and Moretti, 1993). The vegetation in the area is typical from the xeric border of the temperate rain forest present at both sides of the Andes near 40°S (Daniels and Veblen, 2003; Albariño et al., 2009). The dominant soils of the catchment correspond to the order Andisols with deposits of volcanic ash and pyroclastic products and high water retention capacity (>35%) (Bessera and Moretti, 1993). The streambeds are characterized by a dominance of cobble-boulder substrates. Previous studies including streams of the area have reported low concentrations of nutrients, low conductivity, neutral pH and high levels of dissolved oxygen (Bessera and Moretti, 1993; Pedrozo et al., 1993; Garcia and Añón Suárez, 2007).

2.2. Water sampling and field measurements

The four streams were sampled monthly from May 2011 until September 2013. In each stream, one sampling station was set up in the proximity of the outflow point. Water flow measurements were performed using a flowmeter (Global Water, USA). Temperature, dissolved oxygen and conductivity were measured in situ with a YSI 85 (USA) multiprobe, and pH was measured with a Hanna HI98150 (USA) probe. The epilithon community was sampled from rocks collected from each sampling site in each of the four streams. Four rocks of similar size and shape were collected in each stream and were stored individually in plastic bags inside a cooler and taken to the laboratory

where epilithon was brushed off to perform the chlorophyll *a* (chl *a*) concentration measurements.

Subsurface water samples were obtained using acid-washed polycarbonate carboys (5 L) and rinsed in situ with stream water before water collection. The samples were immediately transported to the laboratory, thermally insulated and in darkness.

Meteorological data of the study period was downloaded periodically from an automated weather monitor (Davis Vantage Pro) located at the EMMA Met-Station (Laboratorio de Fotobiología, INIBIOMA, CONICET-UNComahue; 41°7'43.33"S; 71°25'12.03"W; 800 m a.s.l.), close to the sampling site at Casa de Piedra stream. Rainfall was quantified as the total precipitation recorded per day (mm/day).

2.3. Laboratory analysis

2.3.1. Nutrient, chlorophyll *a* and suspended solid determinations

In the laboratory, a volume of 500 mL of the water sample was separated for the determination of total phosphorus (TP) and total nitrogen (TN). TP was measured using the ascorbate-reduced molybdenum blue technique (APHA, 2005). TN was determined after digestion with alkaline solution of potassium persulfate in 1.5 N sodium hydroxide, and subsequent absorbance measurement of nitrate using a UV-visible spectrophotometer (Hewlett-Packard 8453, USA), following Bachmann and Canfield (1996). Total suspended solid concentration (TSS) was determined by filtering a volume of 3 L of whole stream water onto pre-combusted and pre-weighed glass fiber filters (Munktell MF/F 0.7 µm). Finally, the filters were dried at 80 °C for 48 h and weighted. TSS concentration was calculated as the difference between the final and initial mass of the filters divided by the volume of the filtrate (APHA, 2005).

The epilithon was sampled by removing the biofilm from the rocks' surface using a small nylon brush and rinsing with distilled water to obtain a sample of ~100 mL. After homogenizing the sample by manual shaking, 1 mL aliquot was separated for chl *a* extraction with 90% ethanol (Nusch, 1980). After extraction the sample was scanned between 665 nm and 750 nm in a UV-visible spectrophotometer.

2.3.2. Dissolved organic matter characterization

Water samples of each stream were filtered through 0.7 µm glass-fiber filters (Munktell MF/F) and then sterilized by filtration through 0.22 µm PVDF membranes (Millipore) for DOC determination and optical characterization of DOM. Dissolved organic carbon concentrations were measured with a Shimadzu TOC-L high temperature analyzer suited with a high sensitivity catalyst (detection limit of 4 µg/L), to determine non-purgeable organic carbon (NPOC). The mean DOC concentration

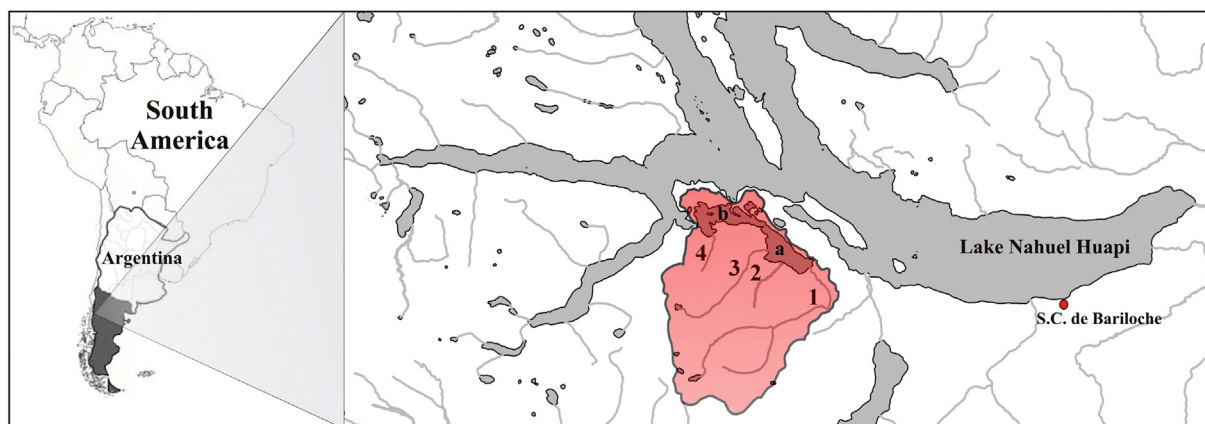


Fig. 1. Geographic location of four studied mountain streams inside the Nahuel Huapi National Park (Patagonia, Argentina). 1) Casa de Piedra; 2) De la Virgen; 3) Goye; 4) López. The area in pink depicts the Lake Moreno complex catchment (a: Lake Moreno East; b: Lake Moreno West) and the four tributary streams. (For interpretation of the references to color in this figure legend, the reader is referred to the web version of this article.)

resulting from each DOC measurement corresponds to the average of 3–5 injections of 400 μL with a coefficient of variation (CV) lower than 2%.

The absorbance spectra (200 to 800 nm) from filtered (Millipore, PVDF membranes, 0.22 μm) water samples were obtained at 1 nm intervals in a UV–visible spectrophotometer (Hewlett–Packard 8453), using a 100 mm quartz cuvette. ASTM1 grade water (Milli-Q) was used as reference blank, subtracting it from each sample spectrum. The averaged UV–visible absorbance between 700 and 800 nm was subtracted from each spectrum to correct for offsets due to several instrument baseline effects (Helms et al., 2008). All absorbance data was converted to absorption coefficients as follows:

$$a = 2.303 \text{ A/l;}$$

where

a Napierian absorption coefficient (m^{-1})
 A absorbance
 l cuvette's path length (m).

The absorption at 350 nm (a_{350}) was applied to analyze terrestrial CDOM signals. This coefficient is a quantitative measure of CDOM concentration and was chosen based on its suitability to estimate DOC, lignin concentrations and inputs of terrestrial DOM (Hernes and Benner, 2003; Spencer et al., 2008; Walker et al., 2013). For comparative purposes, the a_{350} was normalized by DOC concentration (a_{350}/DOC), after Fichot and Benner (2012).

The spectral slopes for the intervals 275–295 nm ($S_{275-295}$) and 350–400 nm ($S_{350-400}$) were calculated by fitting the log-transformed spectral data to a linear model. The resulting slopes were expressed as positive numbers according to a mathematical convention. The $S_{275-295}$ differs between CDOM sources (Stedmon et al., 2011a; Fichot and Benner, 2012) and has been shown to be inversely correlated to the average molecular weight of DOM (Helms et al., 2008). High molecular weight CDOM presents comparatively lower $S_{275-295}$, indicative of a terrestrial source. In contrast, low molecular weight CDOM has higher $S_{275-295}$ which indicates a more degraded and/or autochthonous source (Helms et al., 2008; Stedmon et al., 2011a; Fichot and Benner, 2012). The slope ratio (S_R) was calculated as the ratio of $S_{275-295}$ to $S_{350-400}$ and was used as a proxy of the relative molecular weight/size and source of the DOM, with lower values indicative of DOM of higher molecular weight (Helms et al., 2008; Spencer et al., 2010; Osburn et al., 2011).

For the analysis of fluorescent DOM (FDOM) the filtered water samples (Millipore, PVDF membranes, 0.22 μm) were scanned in a spectrofluorometer Perkin-Elmer 55B (USA) equipped with a 150-W Xenon arc lamp and a Peltier temperature controller, using a 10 mm quartz fluorescence cell. The raw excitation–emission matrices (EEMs) were collected at specific excitation wavelengths (240–450 nm, 5 nm intervals) and emission wavelengths (300–600 nm, 0.5 nm intervals). As detailed above, ASTM1 grade water was used as blank. The spectrofluorometer was set up with 10 nm excitation and emission slits and a scan speed of 1500 nm/min. The EEMs were processed using the software FL-WinLab® (Perkin-Elmer). Absorbance spectra (200–800 nm) were used to develop a correction matrix of factors for each EEM using the Matlab toolbox FDOMcorr, accounting for inner filter effects, blank subtraction and normalization to the area under the water Raman peak of the blank at 350 nm. The resulting data was expressed in Raman units (Murphy et al., 2010).

Additionally, the humification index (HIX) and the freshness index (β : α or BIX) were calculated as compositional indicators of DOM. The HIX was calculated as the sum of emission intensities between 435 and 480 nm divided by the sum of the emission intensities between 300 and 345 nm at the excitation of 254 nm, corrected according to Ohno (2002). The HIX value ranges from 0 to 1 with low values indicative of autochthonous DOM and higher values reflecting highly humified organic material, mainly of terrestrial origin (Ohno, 2002; Huguet et al., 2009). The BIX is used to assess the relative contribution of DOM

processed by microbiota and was measured as the ratio of the emission intensity at 380 nm divided by the maximum emission intensity between 420 and 435 nm, at an excitation of 310 nm (Parlanti et al., 2000; Wilson and Xenopoulos, 2009; Fleck et al., 2014). BIX values higher than 0.8 indicate freshly produced DOM of biological or microbial origin, whereas values < 0.6 are indicative of DOM derived from an allochthonous source (Birdwell and Engel, 2010; Walker et al., 2013).

2.4. PARAFAC modeling

Parallel factor analysis (PARAFAC) was performed using the DOMFluor toolbox for MATLAB software (MATLAB®R2014a, The Natick, USA), according to Stedmon and Bro (2008). A total of 131 EEMs were used to run the PARAFAC, 120 EEMs obtained from samples collected in the four streams and 11 additional EEMs from samples collected across an altitudinal range in Casa de Piedra stream (data not presented here). The Raman and Raleigh scatters were removed from the analysis according to Stedmon and Bro (2008). An exploratory analysis using non-negative constraints was performed to identify outliers. Seven samples identified as outliers were removed from the dataset based on detected instrument errors, artifacts, or striking differences with other samples, determined by calculating a leverage < 0.5 using DOMFluor. Model components were split-half validated (Stedmon et al., 2003; Cory and McKnight, 2005; Stedmon and Bro, 2008). The best model fit was obtained using 10 random initializations. The comparison of the Tucker congruence coefficients (TCC) was done for all the half-splits. The excitation and emission spectra obtained through the PARAFAC modeling were queried against fluorescence spectra included in the open-access database OpenFluor (www.openfluor.org, Murphy et al., 2014), to determine the presence in other studies of the identified PARAFAC components. Components were assumed to be similar, when a minimum similarity score of 0.95 was achieved.

2.5. Data analysis

Data resulting from the different analyses were tested for normal distribution and homoscedasticity. Correlation analysis (Pearson correlation) was applied to study the relationship between chemical parameters in the environmental gradient. Basic descriptive statistics were used (i.e. average and standard deviation) to describe the variability of absorbance and fluorescence values.

A principal component analysis (PCA) was performed including nine variables: precipitation, conductivity, DOC, TP, TN, TSS, and the intensities of the fluorescence components found. The PCA was run with the software CANOCO 4.5 (ter Braak and Smilauer, 1998).

3. Results

3.1. Moreno Lake complex catchment

The catchment of the Moreno Lake complex drains through the Andean streams surveyed in this study: Casa de Piedra, Goye, López and De la Virgen. The larger streams Casa de Piedra (total length: 16.6 km) and Goye (11.4 km) drain catchment areas of ~65.48 km² and ~40.22 km², respectively. These streams are born in high elevation lakes. Casa de Piedra stream drains the chained lakes Témpanos (1657 m a.s.l) and Jakob (1571 m a.s.l), receiving downslope the Navidad stream which drains Lake Navidad (1800 m a.s.l), while Goye stream is born in Lake Negra (1600 m a.s.l). In contrast, López (3.2 km) and De la Virgen (3.6 km) streams collect water from comparatively smaller catchment areas, 9.46 km² and 6.99 km², respectively (Fig. 2). They originate directly from the snowpack thaw, receiving also the input of smaller, mostly transient, streams. The headwaters of the Casa de Piedra, Goye and López streams are above the treeline while De la Virgen stream is born below it (> 1600 m a.s.l). Overall, approximately 86% of the catchment of Moreno Lake complex drains

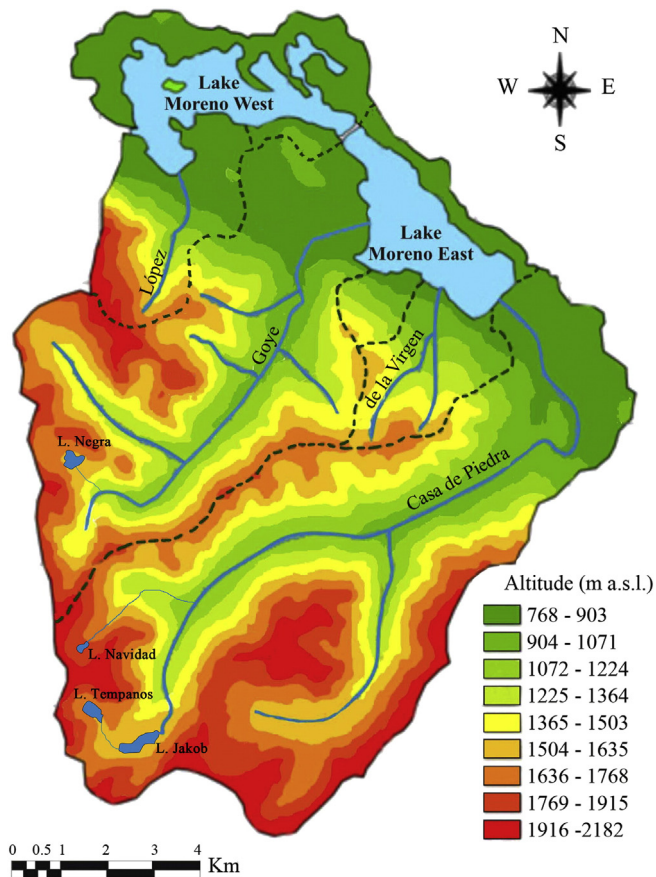


Fig. 2. Lake Moreno complex catchment and the sub-catchments drained by Casa de Piedra, Goye, De la Virgen and López streams (Nahuel Huapi National Park, Patagonia, Argentina).

Map adapted from Queimaliños et al. (2012).

through Casa de Piedra and Goye streams, while the remaining 14% of the area is collected by De la Virgen and López (Fig. 2). The subcatchments have a similar vegetation grading in species composition in the altitudinal range. From 768 m a.s.l (lake level) to 900 m a.s.l., the vegetation is a mixed forest characterized by the occurrence of broadleaf angiosperms such as *Nothofagus dombeyi*, *N. pumilio*, *N. antarctica*, *Lomatia hirsuta* and *Maitenus boaria*, and the gymnosperm *Austrocedrus chilensis*. At increasing elevation, from 900 to 1600 m a.s.l the evergreen forest is replaced by the deciduous *N. pumilio* which dominates the treeline. The

Table 1
Water parameters and chlorophyll *a* (Chl *a*) concentrations due to epilithon recorded in the four mountain streams draining the catchment of the Moreno Lake complex. Values are means (1SD). Units: temperature (°C); conductivity (μS); Chl *a* = chlorophyll *a* concentration due to epilithon (mg/m²).

Streams		Summer (Dec 21/Mar 20)	Autumn (Mar 21/Jun 20)	Winter (Jun 21/Sep 20)	Spring (Sep 21/Dec 20)
Casa de Piedra	Temperature	10.8 (2.4)	5.2 (1.9)	3.8 (0.7)	6.9 (2.7)
	Conductivity	37.1 (12.9)	41.2 (9.9)	40.9 (11.0)	32.2 (6.7)
	pH	7.5 (0.6)	6.7 (0.8)	7.5 (0.6)	7.6 (0.3)
	Chl <i>a</i>	7.9 (2.8)	9.2 (5.6)	8.1 (2.3)	6.9 (1.6)
Goye	Temperature	11.7 (2.8)	5.8 (2.6)	4.4 (1.0)	6.8 (1.4)
	Conductivity	30.2 (8.2)	33.6 (9.9)	36.0 (9.5)	27.7 (14.1)
	pH	7.3 (0.2)	6.7 (0.7)	7.4 (0.6)	7.7 (0.4)
	Chl <i>a</i>	6.2 (1.9)	5.1 (3.7)	8.5 (2.4)	6.0 (3.2)
López	Temperature	10.8 (2.6)	5.5 (2.3)	4.0 (1.0)	6.8 (3.0)
	Conductivity	29.6 (10.4)	43.6 (13.0)	46.7 (17.0)	27.1 (12.3)
	pH	7.3 (0.4)	6.8 (0.6)	7.5 (0.6)	7.5 (0.3)
	Chl <i>a</i>	3.0 (0.8)	4.3 (2.3)	3.7 (1.5)	2.8 (1.4)
De la Virgen	Temperature	10.2 (1.8)	5.5 (1.6)	4.5 (0.9)	7.5 (3.0)
	Conductivity	64.6 (6.1)	68.1 (10.6)	56.6 (11.5)	45.3 (13.6)
	pH	7.4 (0.2)	6.7 (0.6)	7.4 (0.5)	7.5 (0.2)
	Chl <i>a</i>	10.1 (4.8)	9.6 (3.6)	6.0 (2.4)	4.3 (1.0)

Table 2

Results of the correlation analysis applied to study the relationship between precipitation, water parameters, DOC concentration, a_{350} and components detected by the PARAFAC analysis in four Andean Patagonian streams (Pearson correlation test; * = $p < 0.05$; ** = $p < 0.001$; † = $p > 0.05$; each correlation with $n = 21-30$).

Variables	Casa de Piedra	Goye	López	De la Virgen
Rain–discharge	0.301†	0.753**	0.852**	0.542**
Rain–TSS	0.353*	0.539**	0.513**	0.562**
Rain–DOC	0.769**	0.774**	0.702**	0.844**
Rain–TP	0.524**	0.255†	0.668**	0.679**
Rain–TN	0.644**	0.356†	0.278†	0.602**
Rain–C1	0.856**	0.789**	0.530**	0.897**
Rain–C2	0.842**	0.737**	0.524**	0.879**
Rain–C3	0.338†	0.420*	0.191†	0.685**
DOC–C1	0.811**	0.896**	0.694**	0.958**
DOC–C2	0.810**	0.898**	0.689**	0.954**
DOC–C3	0.140†	0.266†	0.279†	0.707**
a_{350} –C1	0.944**	0.961**	0.707**	0.977**
a_{350} –C2	0.854**	0.820**	0.595*	0.946**
a_{350} –C3	0.360†	0.414*	0.244†	0.764**
C1–C2	0.945**	0.888**	0.929**	0.987**
C1–C3	0.280†	0.382†	0.143†	0.770**
C2–C3	0.127†	0.227†	0.185†	0.739**

structure of the *N. pumilio* forest changes from the timberline, where single-stemmed erect trees are replaced by multiple-stems irregular growth forms which start to be less continuous upslope where non-forested altoandino vegetation is found.

The survey of the four Andean Patagonian streams showed strong seasonal variation in water temperature; with values between 3 and 5 °C in winter, and summer temperatures around 10–12 °C (Table 1). The conductivity was in general very low throughout the year, fluctuating between 20 and 50 μS in Casa de Piedra, Goye and López streams. In the case of De la Virgen stream, the conductivity was comparatively higher, taking values between 40 and 70 μS (Table 1). Throughout the study, the four streams underwent a decrease in conductivity concomitant with periods of increased precipitation and discharge. The pH values fluctuated in all cases around neutrality, within a range from 6.4 to 7.8 (Table 1). The chl *a* concentration of the epilithon varied between 2 and 12 mg/m² throughout the year, with a lowest mean value of 3 mg/m² recorded in López stream (Table 1).

Strong positive correlations were found between precipitation and discharge in three out of the four streams surveyed, indicating that precipitation drives the streams' flow (Table 2). The lack of correlation in Casa de Piedra, the stream with the highest discharge, was likely due to the underestimation of the flow during periods of extremely high discharge and current that prevented the regular sampling across the perpendicular stream profile. During the study period, 67% of the

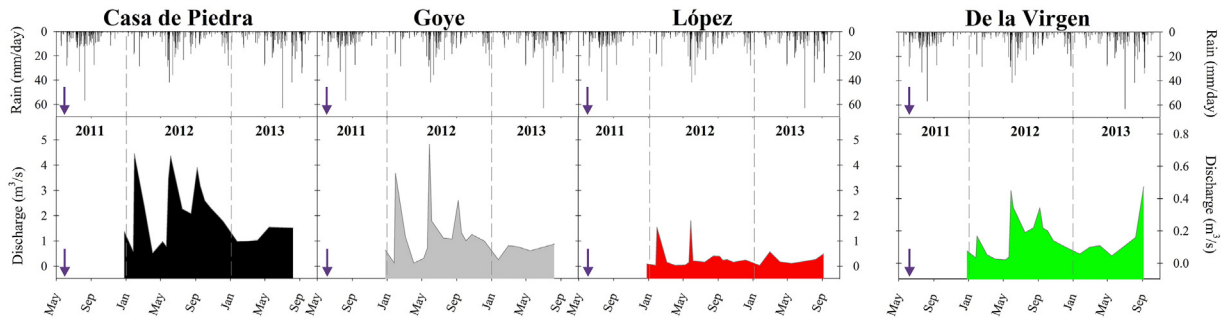


Fig. 3. Daily precipitation volume (upper panel) and discharge (lower panel) in four Andean Patagonian streams during the study period. The arrow indicates the eruption of the Puyehue-Cordón Caulle volcanic complex on 4th June 2011.

total annual precipitation was concentrated within the fall–winter period (April to September), promoting high flows in all the streams (Fig. 3). Casa de Piedra and Goye had the higher flows, with discharge values ranging from 0.1 to 4.8 m³/s. In contrast, López and De la Virgen had lower discharges, ranging from 0.02 to 1.8 m³/s. In all the streams, rainfall events were rapidly followed by the increase in the discharge, and also in the concentration of total suspended solids (TSS) reflecting the contribution of terrestrial material by the runoff (Table 2). Baseline values of TSS in the streams were around 1 mg/L, while during periods of increased runoff the concentration peaked up to 40 mg/L (Fig. 4). In addition, DOC, TP and TN concentrations behaved similarly to TSS (Fig. 4). The DOC concentration was always higher in De la Virgen stream ranging from 0.49 to 2.96 mg/L, with a mean value of 1.0 mg/L. In contrast, Casa de Piedra, Goye and López streams showed comparatively lower DOC concentrations ranging from 0.15 to 1 mg/L, with mean values around 0.5 mg/L (Fig. 4). Baseline nutrient concentrations were very low in all the streams, however, during heavy rainfall events, TP and TN concentrations were up to 10 and 25 times higher, respectively (Fig. 4; Table 2). In the case of TP, the baseline concentrations in

all the streams were around 5 µg/L, peaking up to ~50 µg/L during rainfall events. TN baseline concentrations were ~200 µg/L, reaching high values ~500 µg/L during periods of increased runoff (Fig. 4; Table 2). The first rain event of every season was the most important in terms of increasing TSS, DOC and nutrient concentrations, whereas subsequent rains generally produced a lower effect, possibly because major DOC and nutrients pools had been flushed in previous events.

Unexpectedly, no major changes were recorded in TSS, DOC, TP and TN values of water samples obtained after the eruption of the PCC. The records showed a similar pattern to the recorded after precipitation events.

3.2. DOM characterization through absorbance and fluorescence analysis

The CDOM absorption coefficient a_{350} was found to correlate directly with DOC concentration in all the studied streams (Fig. 5). During strong precipitation periods and increased runoff, the values of a_{350} were high, coinciding with increased DOC concentrations.

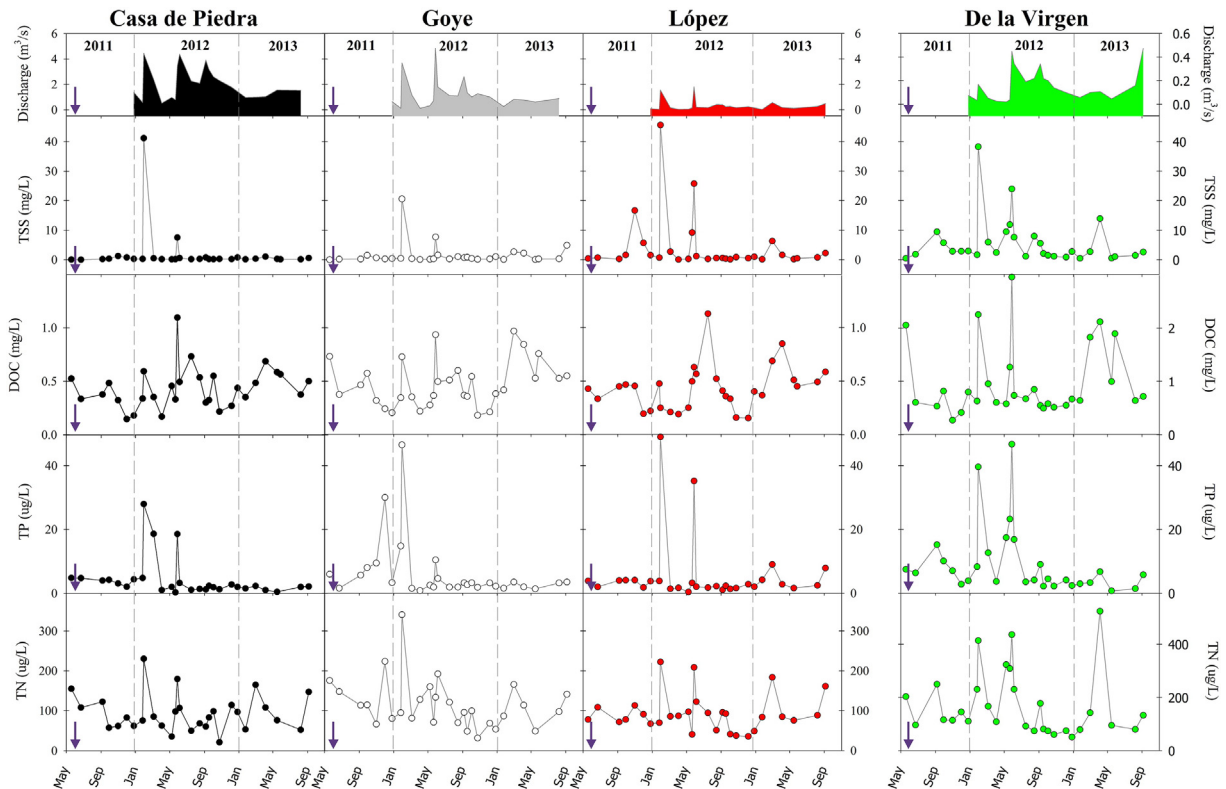


Fig. 4. Seasonal variation in the water discharge (upper panel), and in the concentration of total suspended solids (TSS), dissolved organic carbon (DOC), total phosphorus (TP) and total nitrogen (TN) in four Andean Patagonian streams. The arrow indicates the eruption of the Puyehue-Cordón Caulle volcanic complex on 4th June 2011.

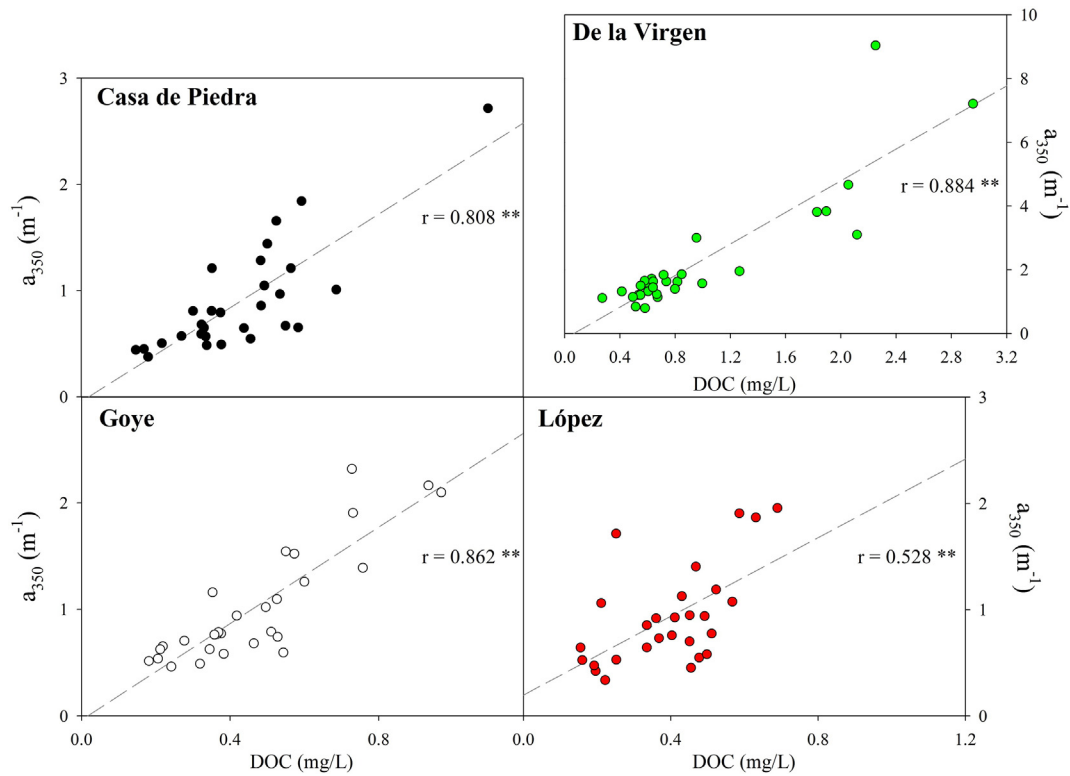


Fig. 5. Relationship between dissolved organic carbon (DOC) concentration and a_{350} in four Andean Patagonian streams (* = $p < 0.05$; ** = $p < 0.001$; each correlation with $n = 28$ –30).

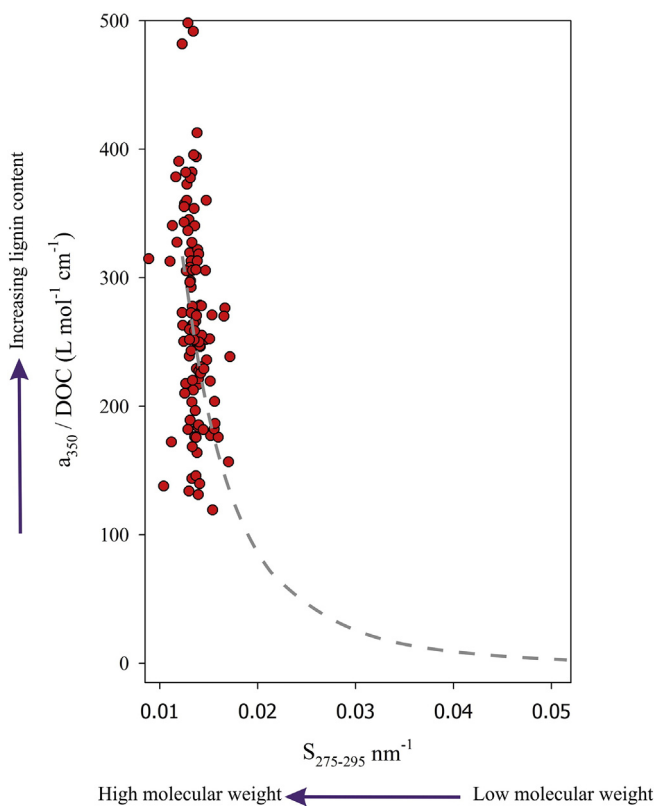


Fig. 6. Relationship between the spectral slope for the intervals 275–295 nm ($S_{275-295}$) and a_{350}/DOC of the four Andean Patagonian streams in a context of the model proposed by Fichot and Benner (2012). The gray dashed line depicts the general model and red dots correspond to the Andean Patagonian streams. (For interpretation of the references to color in this figure legend, the reader is referred to the web version of this article).

The relationship between a_{350}/DOC vs. $S_{275-295}$ in the four Andean streams falls at the lower end of the model proposed by Fichot and Benner (2012) for the surface waters of the northern Gulf of Mexico (Fig. 6). In the context of this model, the streams' DOM can be characterized as composed mainly by high molecular weight compounds (low $S_{275-295}$ values) and with variable lignin content (a_{350}/DOC). Likewise, all streams had low S_R values, varying from 0.54 to 1.32, with mean values between 0.76 and 0.99 indicating the presence of high molecular weight and highly aromatic DOM.

The humification index (HIX) of the stream' samples ranged between 0.8 and 1, with mean values ~ 0.9 (Fig. 7). The freshness index (BIX) of Andean streams showed mean values of ~ 0.6 (Fig. 7). The BIX

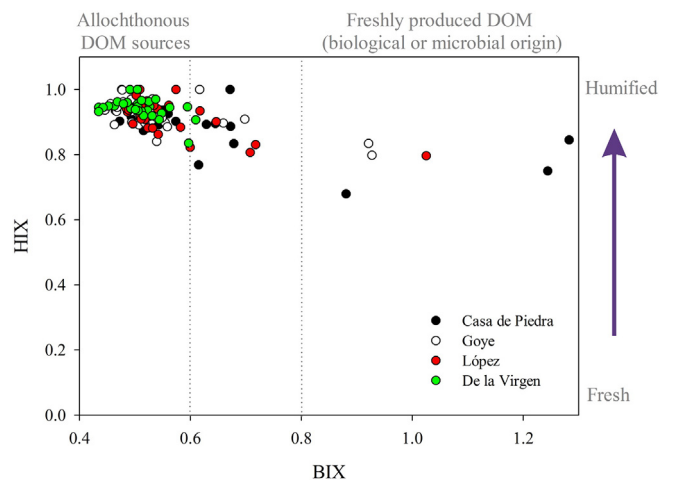


Fig. 7. Relationship between the humification index (HIX) and the freshness index (BIX) in four Andean Patagonian streams. Dotted lines indicate the values reported by Birdwell and Engel (2010) and Walker et al. (2013) and the corresponding DOM characterization.

Table 3

Fluorescence peak locations (secondary peak in parentheses), representative EEMs, and spectral loadings of the three components identified by the PARAFAC model.

Component	Excitation maximum	Emission maximum	EEM	Spectral loadings
1	240 (310) nm	429.5 nm		
2	240 (375) nm	462 nm		
3	270 (410) nm	349.5 (>600) nm		

and HIX showed a strong negative correlation in all the streams (Casa de Piedra $r = -0.623$, $p < 0.001$; Goye $r = -0.5$, $p < 0.05$; López $r = -0.729$, $p < 0.001$; De la Virgen $r = -0.885$, $p < 0.001$), which indicates highly aromatic DOM, supporting other indications about its allochthonous nature. Remarkably, intermediate to high values of the BIX were recorded in all the streams during the spring–summer period of 2011, following the eruption of the PCC.

3.3. PARAFAC

The parallel factor (PARAFAC) analysis of the EEM spectra identified three fluorescent components (C1, C2 and C3) that contribute to FDOM

in the four mountain streams (Table 3). The comparison of the components obtained in our survey with components described and archived in the OpenFluor database (Murphy et al., 2014) revealed that C1 and C2 match with humic-like, terrestrially derived material previously identified in a variety of aquatic environments (Stedmon et al., 2011b, 2011c; Osburn and Stedmon, 2011; Yamashita et al., 2011; Cawley et al., 2012; Graeber et al., 2012; Walker et al., 2013, among others). C1 and C2 showed two excitation maxima at a single emission spectrum, as a combination of two fluorescent peaks (Table 3). C1 has a primary excitation peak at 240 nm and a secondary peak at 310 nm with a maximum emission peak at 429.5 nm, and is often referred to as A + M peaks. C2 has a primary excitation maximum at 240 nm and a secondary

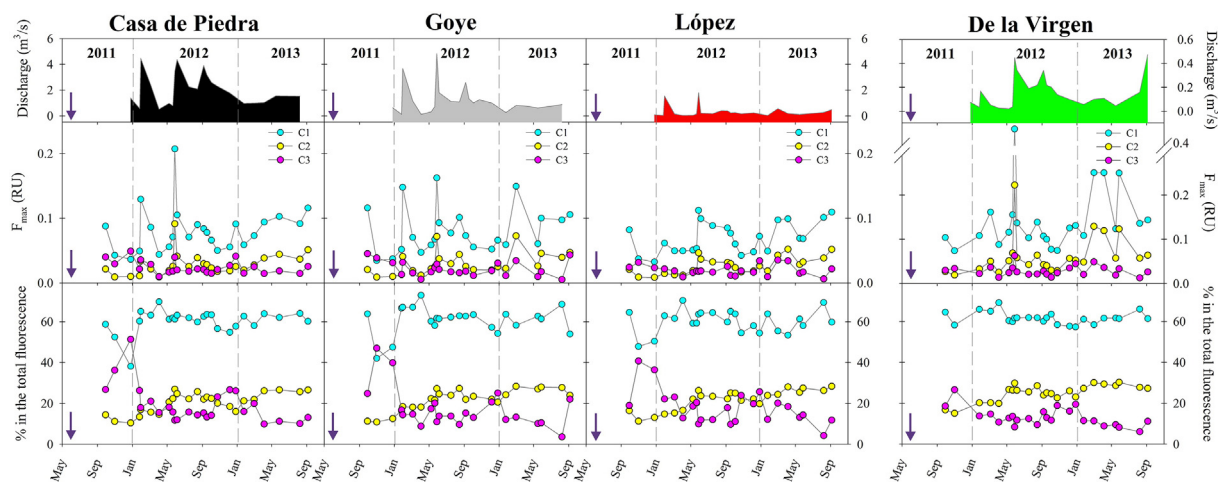


Fig. 8. Streams' discharge (upper panel); fluorescence maximum (F_{\max}) of C1, C2 and C3 (middle panel), and the contribution of the three components to the total fluorescence (lower panel) in four Andean Patagonian streams. The arrow indicates the eruption of the Puyehue–Córdón Caulle volcanic complex on 4th June 2011.

peak at 375 nm showing an emission peak at 462 nm, referred to as the A + C peaks (Table 3). All the fluorescent peaks included in the C1 and C2 have been described as humic-like (Coble, 1996, 2007; Stedmon et al., 2003). The C3 spectra did not match accurately with any fluorescent component published in the OpenFluor database. However, the C3 spectra include fluorescent peaks resembling to peaks previously reported for protein-like and pigment-like compounds (Coble, 2007). Like in the cases of C1 and C2, C3 includes apparently a combination of two fluorescent peaks which are in fact not separable by the PARAFAC analysis. The primary excitation peak was found at 270 nm with an emission band at 349.5 nm associated to Tryptophan or T-peak (Coble, 1996; Stedmon et al., 2003; De Laurentiis et al., 2012). The secondary excitation peak was found at ~410 nm with an emission band probably higher than 600 nm, preventing its detection in the emission matrix applied (cutoff at 600 nm) (Table 3). This peak resembles a pigment-like compound as has been described in Coble et al. (1998) and Coble (2007).

The fluorescent intensities of C1 and C2 responded rapidly to changes in the flow after precipitation events (Fig. 8), showing a strong positive correlation with precipitation, DOC concentration and a_{350} in all the streams (Table 2). Higher fluorescent intensities for all components were observed in De La Virgen stream, whereas the three other streams displayed similarly lower intensities (Fig. 8). The FDOM in the four streams surveyed was almost entirely composed by terrestrially derived material as reflected by the intensity of the components C1 and C2. In all the streams, C1 prevailed along the annual cycle, explaining on average ~60% of the total FDOM signal. During the spring of 2011, C1 declined to 35–45% perhaps due to the effect of the volcanic deposition. In contrast, the contribution of C3 was almost always low (<10%) except during spring time when it increased up to 20–25%. Component 3 had an exceptional contribution during spring 2011 after the volcanic eruption, reaching ~40–55% in Casa de Piedra, Goye and López and ~30% in De la Virgen. In the latter stream, C3 showed a strong positive correlation with precipitation, DOC, a_{350} , C1 and C2 (Table 2), however, these relationships were not significant in the three remaining streams.

3.4. Multivariate analysis: principal component analysis

The results of the PCA showed that the first two principal components (PC1 and PC2) explained ~75% of the total variance. The first component (PC1) explained ~55%, being positively correlated (>0.6) with C1 (0.92), C2 (0.88), C3 (0.6), DOC (0.87), TN (0.82), precipitation (0.74) and TP (0.72) (Supplementary Fig. S1). The PC2 explained ~20%, being negatively correlated with the conductivity (−0.82). The plot PC1 vs. PC2 shows that precipitation is the main factor explaining the variability of the first axis, whereas the conductivity explained most of the variability of the second axis (Supplementary Fig. S1). Most sampling dates showing precipitation values higher than 5 mm/day are placed on the right side of the plot, and can be characterized by a relative high concentration of DOC, nutrients, C1, C2 and C3. These results showed up that precipitation is a strong driver controlling nutrient as well as the DOM concentrations in these streams. The fact that the three components C1, C2 and C3 present the same correlation pattern and high correlation with the PC1, supports the idea that these three components have the same origin.

4. Discussion

The headwaters of the major catchments of Patagonia are located in the high altitudes of the Andes and constitute complex systems of interconnected mountain lakes and streams draining to large and deep piedmont lakes that feed rivers flowing either to the Pacific or the Atlantic oceans (Iriondo, 1989; Modenutti et al., 1998). The biozones of these catchments are clearly delimited by climate, particularly the temperature and precipitation patterns (Paruelo et al., 1998a). The climate in northwestern Patagonia is cold-temperate with precipitation

concentrated in the fall–winter period (April to September), showing the highest values in the Andean stretch (Paruelo et al., 1998b). In this investigation we provide a first integrative approach of the interactions between terrestrial and aquatic systems in four mountain streams draining to a double-basin lake, Lake Moreno complex (Figs. 1 and 2). This catchment is a fluvial network with headwaters originating at high altitudes running on high slopes through rocky soils above the treeline. Downslope the streams cross densely forested areas grading from deciduous to a predominantly evergreen *Nothofagus* cover. Lacustrine systems of this catchment have been the focus of several investigations due to their unique limnological features resulting from the combination of extremely low nutrient and dissolved organic carbon concentrations, challenging solar radiation levels that set the conditions for the development of unique and highly endemic aquatic communities (Morris et al., 1995; Queimaliños et al., 2012; Garcia et al., 2015 and the references therein). Little has been investigated about the low order streams connecting the Lake Moreno complex catchment, although these systems have been indirectly recalled as the main channels of the allochthonous inputs to the piedmont lakes (Queimaliños et al., 2012).

Our survey of Andean Patagonian streams provides evidence of extremely low basal nutrient and DOM concentrations, within the lowest levels recorded globally in oligotrophic running water (Dodds et al., 1998). During our survey, Casa de Piedra, Goye and López streams behaved similarly in terms of hydrologic and physico-chemical parameters, showing low baseline conductivity values, extremely low baseline nutrient and DOC concentrations and also low chlorophyll *a* concentrations. In contrast, De la Virgen stream had always higher values of conductivity, TSS, DOC and nutrient concentrations (Table 1; Fig. 4), reflecting the influence of its particular subcatchment, which is completely covered by *Nothofagus* forest. Nevertheless, in a more general environmental frame the stream parameters recorded are low and characteristic of oligotrophic basins (Dodds et al., 1998). This survey shows that the discharge of the four studied streams reflects the local precipitation regime (Fig. 3), and highlights the essential role of precipitation in the exchange of materials within the catchment (Fig. 4; Supplementary Fig. S1). Particulates, nutrients and DOC exhibit a flushing response with significant variation in their concentrations as a function of stream discharge as has been observed in other systems (van Verseveld et al., 2008). The highest levels of TSS, DOC and nutrient concentrations were observed after the first precipitation event in every season. This is in agreement with the observations of Xu and Saiers (2010) showing that the quantities of DOM mobilized by infiltrating water, decrease with rainfall intensity and frequency. The discharge pattern recorded in our investigation falls within the bimodal discharge described in other mountain streams of northern Patagonia, with higher water levels in fall and winter as consequence of the increased rainfall, and in spring following the snowmelt (Albariño et al., 2009; Díaz Villanueva et al., 2010; Modenutti et al., 2010).

The volcanic eruption that occurred on 4th June 2011 delivered coarse and fine material on the catchment affecting terrestrial and aquatic ecosystems of the NHNP (Modenutti et al., 2013; Chaneton et al., 2014; Daga et al., 2014). The impact of the ash deposited was particularly dramatic in the western limit of the park, neighboring the active volcanic complex. Areas located at slightly higher latitudes (South of Lake Nahuel Huapi) received only small amounts of ash (Chaneton et al., 2014), as was the case of the Moreno lake catchment. The ash covered the recently deposited leaf litter coming from the deciduous and evergreen *Nothofagus* forest thus producing the isolation of the soils. Our sampling schedule comprised pre and post eruption dates; samplings were conducted 15 days previous and posterior to the event, the latter influenced by the torrential rains after the eruption (Fig. 3). The surveyed streams did not show any striking change in turbidity, conductivity, TSS, pH, nutrient and DOC concentrations, likely because the high slopes and high current of these low order systems rapidly channelized the volcanic material into the lakes. Thus, our

results show that the effects of the volcanic material in the streams were similar and/or undistinguishable from those of precipitation, at least in our sampling dates. In contrast, in piedmont lakes of the NHNP, where the volcanic materials cumulated and had a longer retention time, the ash produced an increase in total suspended solids, light extinction, phosphorus concentration and phytoplankton biomass (Modenutti et al., 2013; Balseiro et al., 2014). A study conducted in streams located in close proximity to the PCC, recorded high inputs of coarse and fine material that produced the damming of the water and an increase in turbidity (Lallement et al., 2014). Several studies have shown that the amount and size of the volcanic ash decreased with the distance to the PCC, explaining the difference in the amount and quality of deposited volcanic material along a southeast gradient (Bermúdez and Delpino, 2011; Chaneton et al., 2014). The impact of the PCC eruption in the Moreno lake complex catchment was low compared with systems located in the western limit of the Nahuel Huapi National Park. Further, the magnitude of the impact of the Puyehue–Cordón Caulle may not be comparable for example with Mount St. Helens'. The eruption of Mount St. Helens produced not only the deposition of pyroclastic material but also the sudden failure of the north face of the volcano, causing a massive avalanche of debris into the Spirit lake and the surge of hypolimnetic water. The concentration of dissolved organic constituents increased in Lake Spirit from dissolution of pyroclastic material, mud and ash (McKnight et al., 1988).

The dynamics of the allochthonous inputs of DOM could be traced accurately through the CDOM and FDOM analyses that provided complementary information about the quality and source of the DOM inputs. The absorption coefficient a_{350} , associated to lignin concentration, was found to increase significantly with DOC in all the streams (Fig. 5), indicating the terrestrial origin of the DOM. Similarly, the low values of S_R coinciding with precipitation events, indicated the input of terrestrial DOM of high molecular weight and aromaticity (Helms et al., 2008; Spencer et al., 2010; Osburn et al., 2011). The mean S_R values obtained in this investigation are similar to values reported from Arctic rivers at the peak of the freshet or blackwater tropical rivers during the onset of the wet season, when they receive substantial allochthonous inputs (Spencer et al., 2009, 2010; Stedmon et al., 2011a). The values of the relationship between a_{350} and DOC found in our survey are at the lower end in a more general environmental context as depicted in the study by Spencer et al. (2009, 2012), due to the extremely low DOC concentration of Andean streams (<2 mg/L; mean range: 0.15–1 mg/L). Despite their extremely low DOC levels, the inputs of allochthonous DOM during precipitation events could be traced through the changes in a_{350} values.

The non-linear relationship between $S_{275-295}$ vs. a_{350} /DOC proposed by Fichot and Benner (2012) and used as a dual tracer of terrestrial DOM (high lignin content and high molecular weight) and photobleaching processing can be useful to situate the Andean streams in a wider environmental context. In this model, the Andean streams fall in the range of high molecular weight DOM with variable lignin content. This pattern reflects the influence of the inputs from the catchment, not yet transformed by photochemical processing. In fact, in first order streams traversing steep landscapes of the region, as is the case of the studied systems, the leaf litter is rapidly transported downstream thereby having a short residence time to allow leachate, and physico-chemical and biological degradation inside the streams (Albariño et al., 2009), all processes known to affect DOM concentration and character (Jaffé et al., 2008).

Although there is not a universal relationship between DOM concentration and quality (Inamdar et al., 2012), in systems with a unique or dominant DOM source, as the Andean Patagonian streams, a direct relationship between DOM concentration and FDOM can be established (Del Vecchio and Blough, 2004; Catalan et al., 2014). Two humic-like (C1 and C2) and one protein-like (C3) components were found to be present along the year in the four streams. C1 was the dominant fluorescent component (i.e., the component exhibiting the highest fluorescent intensity), followed by C2. The intensities of both humic-like

components have a strong positive correlation between each other and with precipitation, DOC, and a_{350} related to dissolved lignin content (Fig. 8, Table 2). Fluorescence in the regions of C1 and C2 is often referred to as the M and C humic-like peaks respectively (Coble, 2007). C1 has been recalled as fulvic-like compounds of low molecular weight and related to microbial processing (Hur et al., 2009), thereby suggesting that the allochthonous DOM received from the catchment has been previously processed in the soils. This component has been commonly attributed to low molecular weight compounds from terrestrial plant or soil organic matter, associated with biological activity (Hur et al., 2009; Fellman et al., 2010; Ishii and Boyer, 2012). The C2 has been recalled as a humic-like component of terrestrial origin (Ishii and Boyer, 2012) with an aromatic chemical nature and of higher molecular weight compared to C1 (Coble, 2007; Fellman et al., 2010, among others). Also, the high HIX values (>0.8; Fig. 7) recorded year round in all the streams are indicative of highly humified DOM (Ohno, 2002; Huguet et al., 2009).

The C3 appears as a combination of protein-like and pigment-like fluorophores not separable by the PARAFAC (Table 3). The protein nature of C3 is clearly deduced from the Ex/Em pattern attributable to tryptophan or T-peak. This Ex/Em has been also attributed to other non-proteinaceous molecules like phenolic moieties, important precursors of humic substances (Maie et al., 2007). The presence of another fluorophore in C3 could be inferred by the second excitation peak found at 410 nm. Such excitation peak is related perhaps with an emission peak beyond 600 nm as has been reported for pigment-like fluorophores (Coble et al., 1998; Coble, 2007). However, the EEM emission range (up to 600 nm) did not allow the detection of the secondary emission peak. C3 was in lower proportion than C1 and C2 within the year, however underwent a springtime increase in intensity in all the streams. The presence of C3 may reflect the leachate of litterfall activated in the soils during spring and conducted to the streams by the progressing snowmelt, as been observed also by Ågren et al. (2008). The recent contribution of litterfall leachates is inferred by the increase in the protein/phenolic fluorophores (Maie et al., 2007; Hur et al., 2009), associated with compounds from the degradation of chlorophyll, possibly phaeopigments known as pigment-like fluorophores (Coble et al., 1998; Coble, 2007). In between rainfall events, temperature influences the production and decay of potential mobile organic matter by controlling microbial activity, in turn affecting the production and leaching of DOC (Andersson et al., 2000; Xu and Sifers, 2010). Therefore, changes in MOD quality during spring time may be due to the increase in terrestrial microbial activity through soil warming that reactivates the decomposition processes, thereby enhancing the production of degradation plant materials which fluoresce likewise proteinaceous or phenolic materials (Maie et al., 2007). Then, the observed changes in DOM quality during spring likely represent a different breakdown stage and/or microbial processing upon the allochthonous DOM, as was observed by Hur et al. (2009). In that investigation, leaf litter incubations with microbiota showed a decrease in a protein-like peak (comparable to our C3), while the fulvic (comparable to our C1) and humic (our C2) peaks were both enhanced after the incubation. The high intensity values of C3 after the volcanic eruption (spring 2011) match with the high BIX values due to the presence of larger amounts of litterfall in the soils, probably due to the defoliation of the surrounding forest (Chaneton et al., 2014) and the increase of dissolved organic compounds obtained through the leaf litter leachate. Besides, changes in the composition of soil microbiota influencing the microbial processing of organic materials in the soils could be expected after the volcanic eruption, having in account that the material deposited induced a disruption in aquatic microbial assemblages (Elser et al., 2015). This disruption may have influenced as well the microbial transformation of proteinaceous and/or phenolic materials (C3) into fulvic and humic acids in the soils, as was observed in spring–summer 2011 by the exceptional contribution of C3 in the streams.

Our investigation reveals that the four first order ultraoligotrophic streams mobilize allochthonous DOM from the catchment into the double basin Lake Moreno. Litterfall of the endemic *Nothofagus* species, deciduous (*N. pumilio*) and evergreen (*N. dombeyi*), is likely the main source of organic matter to the soils of the catchment. During fall, precipitation collects materials from the catchment delivering pulses of particulates, nutrients and DOM composed mostly of humic compounds into the streams. During spring, snowmelt collects a mixture of humic, proteinaceous/phenolic and pigment-like compounds from the leaf litter leachates and products of the increasing microbial activity.

The studied streams act mostly as channels for the materials from the catchment. Their high slope, high current and prevailing low temperatures may favor the rapid export of the materials downstream which are likely transferred to lake food webs rather than to the internal production. The essential role of precipitation in the exchange of materials within the catchment reveals the vulnerability of these aquatic systems to fluctuations in the climate. North Patagonia is experiencing changes in precipitation and temperature, particularly the pronounced fluctuation in the frequency and intensity of rainfall is affecting the hydrological cycles (IPCC, 2007a,b; Marengo et al., 2009), while the rise in temperature is causing the glacial melt (Masiokas et al., 2008). Precipitation and temperature patterns are factors affecting the DOM pool in soils and aquatic systems thereby regulating their dynamics (Häder et al., 2007; Larsen et al., 2011; Sadro and Melack, 2012; Williamson et al., 2014). Moreover, the high levels of UVR impacting on the region also create conditions affecting at different scales in both terrestrial and aquatic systems (Diaz et al., 2006; Häder et al., 2007, 2011; Marinone et al., 2006).

Pronounced drought experienced during the last decade (Villalba et al., 2012) may compromise the amount and quality of the materials exported from the catchment. Besides, forest fires, mass movements, and volcanic events, among other impacts in the landscape would logically reflect on the streams and lakes downslope.

Our results provide the first evidence of the allochthonous DOM inputs through the four main tributaries to the Lake Moreno complex, with complementary and converging evidence resulting from the CDOM and FDOM analyses. Thus, even in extremely clear systems as the mountain streams surveyed, absorbance and fluorescence spectroscopic proxies provide a fair characterization of the DOM pool, allowing detecting the source and processes influencing its seasonal fluctuation.

Overall, our investigation presents clear evidence on the role of the precipitation regime as a driver of the hydrology, the magnitude and the quality of the allochthonous inputs into the tributaries draining the catchment. The described pattern may also apply to other headwaters of Andean Patagonia as it is apparently common to large and deep lakes, shallow lakes and first order streams of the region. This investigation underscores the linkage between terrestrial and aquatic ecosystems in remote, pristine regions of the world in which climate change is the main factor influencing the dynamics of natural ultraoligotrophic aquatic environments.

Supplementary data to this article can be found online at <http://dx.doi.org/10.1016/j.scitotenv.2015.03.102>.

Acknowledgments

We are grateful to the San Carlos de Bariloche Town Council and the Administration of the Nahuel Huapi National Park (APN) for granting permission to sample the streams within their jurisdictions. We thank the suggestions of the two anonymous reviewers that greatly improved the manuscript. Dr. George Aiken (United States Geological Survey) is specially acknowledged for mentoring and supporting us in the study of DOM in aquatic systems of Patagonia.

This study was funded by Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET PIP 11220100100064), Agencia Nacional de Promoción Científica y Tecnológica (ANPCyT PICT 2012-

1200 and PICT 2013-1384) and Universidad Nacional del Comahue (B166).

R.D. Garcia and P.E. Garcia are CONICET fellows and M. Reissig, C. Queimaliños, and M.C. Dieguez are CONICET researchers.

References

- Agren, A., Berggren, M., Laudon, H., Jansson, M., 2008. Terrestrial export of highly bioavailable carbon from small boreal catchments in spring floods. *Freshwater Biol.* 53 (5), 964–972.
- Aiken, G.R., 2014. Fluorescence and dissolved organic matter: a chemist's perspective. In: Coble, P.G., Lead, J., Baker, A., Reynolds, D., Spencer, R.G.M. (Eds.), *Aquatic Organic Matter Fluorescence*. Cambridge University Press, New York, pp. 35–74.
- Albariño, R.J., Diaz Villanueva, V., 2006. Feeding ecology of two plecopterans in low order Andean Patagonian streams. *Int. Rev. Hydrobiol.* 91 (2), 122–135.
- Albariño, R.J., Diaz Villanueva, V., Buria, L., 2009. Leaf litter dynamics in a forested small Andean catchment, northern Patagonia, Argentina. *Ecological Advances on Chilean Temperate Rainforests*. Academia Press, Ghent, Belgium, pp. 183–211.
- Andersson, S., Nilsson, S.I., Saetre, P., 2000. Leaching of dissolved organic carbon (DOC) and dissolved organic nitrogen (DON) in mor humus as affected by temperature and pH. *Soil Biol. Biochem.* 32, 1–10.
- APHA, 2005. *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*. 21st ed. American Public Health Association, Washington, D.C.
- Bachmann, R., Canfield Jr., D., 1996. Use of an alternative method for monitoring total nitrogen concentrations in Florida lakes. *Hydrobiologia* 323 (1), 1–8.
- Baker, M.A., Valett, H.M., Dahm, C.N., 2000. Organic carbon supply and metabolism in a shallow groundwater ecosystem. *Ecology* 81, 3133–3148.
- Balseiro, E., Souza, M.S., Serra Olabuenaga, I., Wolinski, L., Bastidas Navarro, M., Laspoumaderes, C., Modenutti, B., 2014. Effect of the Puyehue–Cordon Caulle volcanic complex eruption on crustacean zooplankton of Andean lakes. *Ecol. Austral* 24, 75–82.
- Bastidas Navarro, M., Modenutti, B., 2012. Precipitation patterns, dissolved organic matter and changes in the plankton assemblage in Lake Escondido (Patagonia, Argentina). *Hydrobiologia* 691, 189–202.
- Battin, T.J., Luysaert, S., Kaplan, L.A., Aufdenkampe, A.K., Richter, A., Tranvik, L.J., 2009. The boundless carbon cycle. *Nat. Geosci.* 2, 598–600.
- Benner, R., 2003. Molecular indicators of the bioavailability of dissolved organic matter. *Aquatic Ecosystems: Interactivity of Dissolved Organic Matter*. Academic Press, pp. 121–137.
- Bermúdez, A., Delpino, D., 2011. La actividad el volcán Puyehue y su impacto sobre el territorio de la República Argentina. *Primer Informe*, Neuquén 14.
- Bessera, E.M., Moretti, A.E., 1993. Propuesta de desarrollo productivo integrado agro-silvo-pastoril para Colonia Suiza. 1) Lineamientos y Directrices Generales de manejo. *Convenio Univ. Nac. Comahue, Prov. de Río Negro*.
- Birdwell, J.E., Engel, A.S., 2010. Characterization of dissolved organic matter in cave and spring waters using UV–Vis absorbance and fluorescence spectroscopy. *Org. Geochem.* 41 (3), 270–280.
- Boyer, E.W., Hornberger, G.M., Bencala, K.E., McKnight, D.M., 1997. Response characteristics of DOC flushing in an alpine catchment. *Hydrol. Process.* 11, 1635–1647.
- Brooks, P.D., McKnight, D.M., Bencala, K.E., 1999. The relationship between soil heterotrophic activity, soil dissolved organic carbon (DOC) leachate, and catchment-scale DOC export in headwater catchments. *Water Resour. Res.* 35, 1895–1902.
- Cardona, C., Basualto, D., Franco, L., Gil, F., Valderrama, A., 2012. Actividad sísmica relacionada con la erupción del Complejo Volcánico Cordón Caulle – Chile, Junio 4 de 2011. XIII Congreso Geológico Chileno, August 5–9, Antofagasta, Chile.
- Catalan, N., Obrador, B., Pretus, J.L., 2014. Ecosystem processes drive dissolved organic matter quality in a highly dynamic water body. *Hydrobiologia* 728 (1), 111–124.
- Cawley, K.M., Ding, Y., Fourqurean, J., Jaffé, R., 2012. Characterising the sources and fate of dissolved organic matter in Shark Bay, Australia: a preliminary study using optical properties and stable carbon isotopes. *Mar. Freshw. Res.* 63 (11), 1098–1107.
- Chaneton, E.J., Mazía, N., Garibaldi, L.A., Chaij, J., Kitzberger, T., 2014. Impacto de la deposición de ceniza volcánica sobre la productividad foliar y la herbivoría por insectos en bosques deciduos del norte de la Patagonia. *Ecol. Austral* 24 (1), 51–63.
- Coble, P.G., 1996. Characterization of marine and terrestrial DOM in seawater using excitation-emission matrix spectroscopy. *Mar. Chem.* 51, 325–346.
- Coble, P.G., 2007. Marine optical biogeochemistry: the chemistry of ocean color. *Chem. Rev.* 107 (2), 402–418.
- Coble, P.G., Del Castillo, C.E., Avril, B., 1998. Distribution and optical properties of CDOM in the Arabian Sea during the 1995 Southwest Monsoon. *Deep-Sea Res. II* 45, 2195–2223.
- Cole, J.J., Prairie, Y.T., Caraco, N.F., McDowell, W.H., Tranvik, L.J., Striegl, R.G., Duarte, C.M., Kortelainen, P., Downing, J.A., Middelburg, J.J., Melack, J., 2007. Plumbing the global carbon cycle: integrating inland waters into the terrestrial carbon budget. *Ecosystems* 10, 171–184.
- Cory, R.M., McKnight, D.M., 2005. Fluorescence spectroscopy reveals ubiquitous presence of oxidized and reduced quinones in dissolved organic matter. *Environ. Sci. Technol.* 39, 8142–8149.
- Daga, R., Ribeiro Guevara, S., Sánchez, M.L., Arribére, M., 2008. Source identification of volcanic ashes by geochemical analysis of well preserved lacustrine tephra in Nahuel Huapi National Park. *Appl. Radiat. Isot.* 66, 1325–1336.
- Daga, R., Guevara, S.R., Poire, D.G., Arribére, M., 2014. Characterization of tephra dispersed by the recent eruptions of volcanoes Calbuco (1961), Chaitén (2008) and Cordón Caulle Complex (1960 and 2011), in Northern Patagonia. *J. S. Am. Earth Sci.* 49, 1–14.

- Daniels, L.D., Veblen, T.T., 2003. Altitudinal treelines of the southern Andes near 40°S. *For. Chron.* 79 (2), 237–241.
- De Laurentiis, E., Minella, M., Maurino, V., Minero, C., Brigante, M., Mailhot, G., Vione, D., 2012. Photochemical production of organic matter triplet states in water samples from mountain lakes, located below or above the tree line. *Chemosphere* 88 (10), 1208–1213.
- Del Vecchio, R., Blough, N.V., 2004. Spatial and seasonal distribution of chromophoric dissolved organic matter and dissolved organic carbon in the Middle Atlantic Bight. *Mar. Chem.* 89, 169–187.
- Díaz Villanueva, V., Buria, L., Albariño, R., 2010. Primary consumers and resources: annual variation in two contrasting reaches of a Patagonian mountain stream. *Ann. Limnol. Int. J. Limnol.* 46, 21–28.
- Díaz, S., Camillon, C., Armstrong, R., Booth, R., Cabrera, S., Casiccia, H., Fuenzalida, H., Lovengreen, C., Paladini, A., Pedroni, J., Rosales, H., Zagarese, H.E., Vernet, M., 2006. Climatologies and anomalies of ozone and UV radiation at Southern South-America. *Photochem. Photobiol.* 82, 834–843.
- Diehl, P., Mazzarino, M.J., Funes, F., Fontenla, S., Gobbi, M., Ferrari, J., 2003. Nutrient conservation strategies in native Andean Patagonian forests. *J. Veg. Sci.* 14 (1), 63–70.
- Dodds, W.K., Jones, J.R., Welch, E.B., 1998. Suggested classification of stream trophic state: distributions of temperate stream types by chlorophyll, total nitrogen, and phosphorus. *Water Res.* 32 (5), 1455–1462.
- Elser, J.J., Bastidas, M., Corman, J.R., Emick, H., Kellom, M., Laspoumaderes, C., Lee, Z.M., Poret-Peterson, A., Balseiro, E., Modenutti, B., 2015. Community structure and biogeochemical impacts of microbial life on floating pumice. *Appl. Environ. Microbiol.* 81 (5), 1542–1549.
- Fasching, C., Behounek, B., Singer, G.A., Battin, T.J., 2014. Microbial degradation of terrigenous dissolved organic matter and potential consequences for carbon cycling in brown-water streams. *Sci. Rep.* 4.
- Fellman, J.B., Hood, E., Edwards, R.T., D'Amore, D.V., 2009. Changes in the concentration, biodegradability, and fluorescent properties of dissolved organic matter during stormflows in coastal temperate watersheds. *J. Geophys. Res.* 114, G01021.
- Fellman, J.B., Hood, E., Spencer, R.G., 2010. Fluorescence spectroscopy opens new windows into dissolved organic matter dynamics in freshwater ecosystems: a review. *Limnol. Oceanogr.* 55 (6), 2452–2462.
- Fichot, C.G., Benner, R., 2012. The spectral slope coefficient of chromophoric dissolved organic matter ($S_{275-295}$) as a tracer of terrigenous dissolved organic carbon in river-influenced ocean margins. *Limnol. Oceanogr.* 57 (5), 1453.
- Findlay, S.E.G., Sinsabaugh, R.L., 2003. Interactivity of Dissolved Organic Matter. Academic, San Diego, Calif.
- Finlay, J.C., Neff, J.C., Zimov, S., Davydova, A., Savydov, S., 2006. Snowmelt dominance of dissolved organic carbon in high-latitude watersheds: implications for characterization and flux of river DOC. *Geophys. Res. Lett.* 33.
- Fleck, J.A., Gill, G., Bergamaschi, B.A., Kraus, T.E., Downing, B.D., Alpers, C.N., 2014. Concurrent photolytic degradation of aqueous methylmercury and dissolved organic matter. *Sci. Total Environ.* 484, 263–275.
- García, P.E., Añón Suárez, D.A., 2007. Community structure and phenology of chironomids (Insecta: Chironomidae) in a Patagonian Andean stream. *Limnologia* 37 (1), 109–117.
- García, P.E., Dieguez, M.C., Queimaliños, C.P., 2015. Landscape integration of North Patagonian mountain lakes: a first approach using the characterization of dissolved organic matter. *Lakes Reserv.* 20, 1–14.
- Graeber, D., Gelbrecht, J., Pusch, M.T., Anlanger, C., von Schiller, D., 2012. Agriculture has changed the amount and composition of dissolved organic matter in Central European headwater streams. *Sci. Total Environ.* 438, 435–446.
- Häder, D.P., Kumar, H.D., Smith, R.C., Worrest, R.C., 2007. Effects of solar UV radiation on aquatic ecosystems and interactions with climate change. *Photochem. Photobiol. Sci.* 6 (3), 267–285.
- Häder, D.P., Helbling, E.W., Williamson, C.E., Worrest, R.C., 2011. Effects of UV radiation on aquatic ecosystems and interactions with climate change. *Photochem. Photobiol. Sci.* 10, 242–260.
- Helms, J.R., Stubbins, A., Ritchie, J.D., Minor, E.C., Kieber, D.J., Mopper, K., 2008. Absorption spectral slopes and slope ratios as indicators of molecular weight, source, and photobleaching of chromophoric dissolved organic matter. *Limnol. Oceanogr.* 53, 955–969.
- Hernes, P.J., Benner, R., 2003. Photochemical and microbial degradation of dissolved lignin phenols: implications for the fate of terrigenous dissolved organic matter in marine environments. *J. Geophys. Res. Oceans* 108 (C9).
- Hessen, D.O., Tranvik, L.J., 1998. *Aquatic Humic Substances: Ecology and Biogeochemistry* 133. Springer.
- Hood, E., Williams, M.W., Mcknight, D.M., 2005. Sources of dissolved organic matter in a Rocky Mountain stream using chemical fractionation and stable isotopes. *Biogeochemistry* 74, 231–255.
- Hruska, J., Köhler, S., Laudon, H., Bishop, K., 2003. Is a universal model of organic acidity possible: comparison of the acid/base properties of dissolved organic carbon in the boreal and temperate zones. *Environ. Sci. Technol.* 37 (9), 1726–1730.
- Huguet, A., Vacher, L., Relexans, S., Saubusse, S., Froidefond, J.M., Parlanti, E., 2009. Properties of fluorescent dissolved organic matter in the Gironde Estuary. *Org. Geochem.* 40, 706–719.
- Hur, J., Park, M.-H., Schlautman, M., 2009. Microbial transformation of dissolved leaf litter organic matter and its effects on selected organic matter operational descriptors. *Environ. Sci. Technol.* 43, 2315–2321.
- Inamdar, S., Finger, N., Singh, S., Mitchell, M., Levina, D., Bais, H., Scott, D., McHale, P., 2012. Dissolved organic matter (DOM) concentration and quality in a forested mid-Atlantic watershed. *USA. Biogeochemistry* 108 (1–3), 55–76.
- IPCC, 2007a. *Climate Change 2007: the physical science basis. Contribution of Working Group 1 to the Fourth Assessment Report of the I. P. on C. C. (IPCC WGI)*, Cambridge.
- IPCC, 2007b. *Climate Change 2007: impacts, adaptation & vulnerability. Contribution of Working Group 2 to the Fourth Assessment Report of the I. P. on C. C. (IPCC WGII)*, Cambridge.
- Iriondo, M., 1989. Quaternary lakes of Argentina. *Palaeogeogr. Palaeoclimatol. Palaeoecol.* 70, 81–88.
- Ishii, S.K., Boyer, T.H., 2012. Behavior of reoccurring PARAFAC components in fluorescent dissolved organic matter in natural and engineered systems: a critical review. *Environ. Sci. Technol.* 46 (4), 2006–2017.
- Jaffé, R., McKnight, D., Maie, N., Cory, R., McDowell, W.H., Campbell, J.L., 2008. Spatial and temporal variations in DOM composition in ecosystems: the importance of long-term monitoring of optical properties. *J. Geophys. Res. Biogeosci.* 113 (G4) (2005–2012).
- Jansson, M., Persson, L., De Roos, A.M., Jones, R., Tranvik, L.J., 2007. Terrestrial carbon and intraspecific size-variation shape lake ecosystems. *Trends Ecol. Evol.* 22, 316–322.
- Klüser, L., Erbertseder, T., Meyer-Arneke, J., 2013. Observation of volcanic ash from Puyehue-Cordón Caulle with IASI. *Atmos. Meas. Tech.* 6 (1), 35–46.
- Lallement, M.E., Juárez, S.M., Macchi, P.J., Vigliano, P.H., 2014. Puyehue Cordón-Caulle: Cambios en la fauna bentónica de arroyos de Patagonia post-erupción. *Ecol. Austral* 24 (1), 64–74.
- Larsen, L.G., Aiken, G.R., Harvey, J.W., Noe, G.B., Crimaldi, J.P., 2010. Using fluorescence spectroscopy to trace seasonal DOM dynamics, disturbance effects, and hydrologic transport in the Florida Everglades. *J. Geophys. Res. Biogeosci.* 115 (G3) (2005–2012).
- Larsen, S., Andersen, T., Hessen, D., 2011. Climate change predicted to cause severe increase of organic carbon in lakes. *Glob. Chang. Biol.* 17, 1186–1192.
- Laudon, H., Berggren, M., Ågren, A., Buffam, I., Bishop, K., Grabs, T., Jansson, M., Köhler, S., 2011. Patterns and dynamics of dissolved organic carbon (DOC) in boreal streams: the role of processes, connectivity, and scaling. *Ecosystems* 14 (6), 880–893.
- Maie, N., Scully, N.M., Pisani, O., Jaffé, R., 2007. Composition of a protein-like fluorophore of dissolved organic matter in coastal wetland and estuarine ecosystems. *Water Res.* 41, 563–570.
- Marengo, J.A., Jones, R., Alves, L.M., Valverde, M.C., 2009. Future change of temperature and precipitation extremes in South America as derived from the PRECIS regional climate modeling system. *Int. J. Climatol.* 29 (15), 2241–2255.
- Marinone, M.C., Marque, S.M., Suárez, D.A., Diéguez, M.C., Pérez, P., Ríos, P., Soto, D., Zagarese, H.E., 2006. UV radiation as a potential driving force for zooplankton community structure in Patagonian lakes. *Photochem. Photobiol.* 82 (4), 962–971.
- Masiokas, M.H., Villalba, R., Luckman, B.H., Lascano, M.E., Delgado, S., Stepanek, P., 2008. 20th-century glacier recession and regional hydroclimatic changes in northwestern Patagonia. *Glob. Planet. Chang.* 60 (1), 85–100.
- McElmurry, S.P., Long, D.T., Voice, T.C., 2013. Stormwater dissolved organic matter: influence of land cover and environmental factors. *Environ. Sci. Technol.* 48 (1), 45–53.
- McKnight, D.M., Thorn, K.A., Wershaw, R.L., 1988. Rapid changes in dissolved humic substances in Spirit Lake and South Fork Castle Lake, Washington. *Limnol. Oceanogr.* 33, 1527–1541.
- McKnight, D.M., Boyer, E.W., Westerhoff, P.K., Doran, P.T., Kulbe, T.K., Andersen, D.T., 2001. Spectrofluorometric characterization of dissolved organic matter for indication of precursor organic material and aromaticity. *Limnol. Oceanogr.* 46, 38–48.
- Mladenov, N., Sommaruga, R., Morales-Baquero, R., Laurion, I., Camarero, L., Diéguez, M.C., Camacho, S., Delgado, A., Torres, O., Chen, Z., Felip, M., Reche, I., 2011. Dust inputs and bacteria influence dissolved organic matter in clear alpine lakes. *Nat. Commun.* 2, 405.
- Modenutti, B.E., Balseiro, E.G., Queimaliños, C.P., Añón Suárez, D.A., Diéguez, M.C., Albariño, R.J., 1998. Structure and dynamics of food webs in Andean lakes. *Lakes Reserv. Res. Manag.* 3, 179–186.
- Modenutti, B.E., Albariño, R., Bastidas Navarro, M., Díaz Villanueva, V., Souza, M.S., Trochine, C., Laspoumaderes, C., Cuassolo, F., Mariluán, G., Buria, L., Balseiro, E.G., 2010. Structure and dynamic of food webs in Andean North Patagonian freshwater systems: organic matter, light and nutrient relationships. *Ecol. Austral* 20, 89–221.
- Modenutti, B.E., Balseiro, E.G., Elser, J.J., Bastidas Navarro, M., Cuassolo, F., Laspoumaderes, C., Souza, M.S., Díaz Villanueva, V., 2013. Effect of volcanic eruption on nutrients, light and phytoplankton in oligotrophic lakes. *Limnol. Oceanogr.* 58, 1165–1175.
- Morris, D.P., Zagarese, H., Williamson, C.E., Balseiro, E.G., Hargreaves, B.R., Modenutti, B., Moeller, R., Queimalinos, C., 1995. The attenuation of solar UV radiation in lakes and the role of dissolved organic carbon. *Limnol. Oceanogr.* 40, 1381–1391.
- Murphy, K.R., Butler, K.D., Spencer, R.G.M., Stedmon, C.A., Boehme, J.R., Aiken, G.R., 2010. Measurement of dissolved organic matter fluorescence in aquatic environments: an interlaboratory comparison. *Environ. Sci. Technol.* 44, 9405–9412.
- Murphy, K.R., Stedmon, C.A., Wenig, P., Bro, R., 2014. OpenFluor — an online spectral library of auto-fluorescence by organic compounds in the environment. *Anal. Methods* 6 (3), 658–661.
- Nilsson, M., Sagerfors, J., Buffam, I., Laudon, H., Eriksson, T., Grelle, A., Klemmedtsson, L., Weslien, P., Lindroth, A., 2008. Contemporary carbon accumulation in a boreal oligotrophic minerogenic mire — a significant sink after accounting for all C-fluxes. *Glob. Chang. Biol.* 14, 2317–2332.
- Nusch, E., 1980. Comparison on different methods for chlorophyll and phaeopigment determination. *Arch. Hydrobiol. Beih. Ergebn. Limnol.* 14, 14–36.
- Ohno, T., 2002. Fluorescence inner-filtering correction for determining the humification index of dissolved organic matter. *Environ. Sci. Technol.* 36, 742–746.
- Osburn, C.L., Stedmon, C.A., 2011. Linking the chemical and optical properties of dissolved organic matter in the Baltic–North Sea transition zone to differentiate three allochthonous inputs. *Mar. Chem.* 126 (1), 281–294.
- Osburn, C.L., Wiggdahl, C.R., Fritz, S.C., Saros, J.E., 2011. Dissolved organic matter composition and photoreactivity in prairie lakes of the US Great Plains. *Limnol. Oceanogr.* 56 (6), 2371–2390.

- Parlanti, E., Wörz, K., Geoffroy, L., Lamotte, M., 2000. Dissolved organic matter fluorescence spectroscopy as a tool to estimate biological activity in a coastal zone submitted to anthropogenic inputs. *Org. Geochem.* 31 (12), 1765–1781.
- Paruelo, J.M., Jobágyi, E.G., Sala, O.E., 1998a. Biozones of Patagonia (Argentina). *Ecol. Austral* 8, 145–153.
- Paruelo, J.M., Beltrán, A., Jobágyi, E., Sala, O.E., Golluscio, R.A., 1998b. The climate of Patagonia: general patterns and controls on biotic processes. *Ecol. Austral* 8, 85–101.
- Pedrozo, F., Chillrud, S., Temporetti, P., Díaz, M., 1993. Chemical composition and nutrient limitation in rivers and lakes of northern Patagonian Andes (39.5°–42° S; 71° W) (Rep. Argentina). *Verh. Int. Ver. Limnol.* 25, 205–214.
- Pérez, G., Queimaliños, C.P., Modenutti, B.E., 2002. Light climate at the deep chlorophyll maxima in North Patagonian Andean Lakes (Argentina). *J. Plankton Res.* 24, 591–599.
- Pérez, G., Queimaliños, C., Balseiro, E.G., Modenutti, B., 2007. Phytoplankton absorption spectra along the water column in deep North Patagonian Andean lakes (Argentina). *Limnologia* 37, 3–16.
- Pérez, G., Lagomarsino, L., Zagarese, H.E., 2013. Optical properties of highly turbid shallow lakes with contrasting turbidity origins: the ecological and water management implications. *J. Environ. Manag.* 130, 207–220.
- Queimaliños, C., Reissig, R., Diéguez, M.C., Arcagni, M., Ribeiro Guevara, S., Campbell, L., Soto Cárdenas, C., Rapacioli, R., Arribére, M., 2012. Influence of precipitation, landscape and hydrogeomorphic lake features on pelagic allochthonous indicators in two connected ultraoligotrophic lakes of North Patagonia. *Sci. Total Environ.* 427–428, 219–228.
- Ravichandran, M., 2004. Interactions between mercury and dissolved organic matter – a review. *Chemosphere* 55 (3), 319–331.
- Sadro, S., Melack, J., 2012. The effect of an extreme rain event on the biogeochemistry and ecosystem metabolism of an oligotrophic high-elevation lake. *Arct. Antarct. Alp. Res.* 44, 222–231.
- Spencer, R.G., Aiken, G.R., Wickland, K.P., Striegl, R.G., Hernes, P.J., 2008. Seasonal and spatial variability in dissolved organic matter quantity and composition from the Yukon River basin, Alaska. *Glob. Biogeochem. Cycles* 22 (4).
- Spencer, R.G., Aiken, G.R., Butler, K.D., Dornblaser, M.M., Striegl, R.G., Hernes, P.J., 2009. Utilizing chromophoric dissolved organic matter measurements to derive export and reactivity of dissolved organic carbon to the Arctic Ocean: a case study of the Yukon River, Alaska. *Geophys. Res. Lett.* 36, L06401.
- Spencer, R.G., Hernes, P.J., Ruf, R., Baker, A., Dyda, R.Y., Stubbins, A., Six, J., 2010. Temporal controls on dissolved organic matter and lignin biogeochemistry in a pristine tropical river, Democratic Republic of Congo. *J. Geophys. Res.* 115, G03013.
- Spencer, R.G., Butler, K.D., Aiken, G.R., 2012. Dissolved organic carbon and chromophoric dissolved organic matter properties of rivers in the USA. *J. Geophys. Res. Biogeosci.* 117 (G3) (2005–2012).
- Stedmon, C.A., Bro, R., 2008. Characterizing dissolved organic matter fluorescence with parallel factor analysis: a tutorial. *Limnol. Oceanogr. Methods* 6, 572–579.
- Stedmon, C.A., Markager, S., Bro, R., 2003. Tracing dissolved organic matter in aquatic environments using a new approach to fluorescence spectroscopy. *Mar. Chem.* 82 (3), 239–254.
- Stedmon, C.A., Amon, R.M., Rinehart, A.J., Walker, S.A., 2011a. The supply and characteristics of colored dissolved organic matter (CDOM) in the Arctic Ocean: Pan Arctic trends and differences. *Mar. Chem.* 124, 108–118.
- Stedmon, C.A., Seredyńska-Sobecka, B., Boe-Hansen, R., Le Tallec, N., Waul, C.K., Arvin, E., 2011b. A potential approach for monitoring drinking water quality from groundwater systems using organic matter fluorescence as an early warning for contamination events. *Water Res.* 45 (18), 6030–6038.
- Stedmon, C.A., Thomas, D.N., Papadimitriou, S., Granskog, M.A., Dieckmann, G.S., 2011c. Using fluorescence to characterize dissolved organic matter in Antarctic sea ice brines. *J. Geophys. Res. Biogeosci.* 116 (G3) (2005–2012).
- ter Braak, C.J.F., Smilauer, P., 1998. CANOCO reference manual and User's guide to Canoco for windows: software for canonical community ordination (version 4.5). Centre for Biometry.
- van Verseveld, W.J., McDonnell, J.J., Lajtha, K., 2008. A mechanistic assessment of nutrient flushing at the catchment scale. *J. Hydrol.* 358, 268–287.
- Villalba, R., Lara, A., Masiokas, M.H., et al., 2012. Unusual Southern hemisphere tree growth patterns induced by changes in the Southern Annular Mode. *Nat. Geosci.* 5, 793–798.
- Walker, S.A., Amon, R.M., Stedmon, C.A., 2013. Variations in high-latitude riverine fluorescent dissolved organic matter: a comparison of large Arctic rivers. *J. Geophys. Res. Biogeosci.* 118 (4), 1689–1702.
- Williamson, C.E., Brentrup, J.A., Zhang, J., Renwick, W.H., Hargreaves, B.R., Knoll, L.B., Overholt, E.P., Rose, K.C., 2014. Lakes as sensors in the landscape: optical metrics as scalable sentinel responses to climate change. *Limnol. Oceanogr.* 59, 840–850.
- Wilson, H.F., Xenopoulos, M.A., 2009. Effects of agricultural land use on the composition of fluvial dissolved organic matter. *Nat. Geosci.* 2 (1), 37–41.
- Xu, N., Sifers, J.E., 2010. Temperature and hydrologic controls on dissolved organic matter mobilization and transport within a forest topsoil. *Environ. Sci. Technol.* 44, 5423–5429.
- Yamashita, Y., Kloeppel, B.D., Knoepp, J., Zausen, G.L., Jaffé, R., 2011. Effects of watershed history on dissolved organic matter characteristics in headwater streams. *Ecosystems* 14 (7), 1110–1122.